

Kombinasjon av høye nivåer av vegetabilske fôroljer og lav sjøtemperatur

Sett i sammenheng med vekst, dødelighet og prodkost hos regnbueørret i Nord

Solveig van Nes, Tone-Kari Knutsdatter Østbye, Bente Ruyter, Jens-Erik Dessen, Inger Øien Kristiansen, Målfrid Bjerke og Kjell-Arne Rørvik





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

Nofima har om lag 400 ansatte.

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

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9–13
Postboks 6122
NO-9291 Tromsø

Ås:

Osloveien 1
Postboks 210
NO-1431 ÅS

Stavanger:

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

Bergen:

Kjerreidviken 16
NO-5141 Fyllingsdalen

Sunndalsøra:

Sjølseng
NO-6600 Sunndalsøra

Averøy:

Ekkilsøy
NO-6530 Averøy

Felles kontaktinformasjon:

Tlf: 02140

Faks: 64 97 03 33

E-post: post@nofima.no

Internett: www.nofima.no

Foretaksnr.:

NO 989 278 835 MVA

Rapport

Tittel: Kombinasjon av høye nivåer av vegetabiliske fôroljer og lav sjøtemperatur; Sett i sammenheng med vekst og dødelighet hos regnbueørret i Nord		ISBN: 978-82-8296-096-0 (trykt) ISBN: 978-82-8296-097-7 (pdf) ISSN 1890-579X
Forfatter(e)/Prosjektleder: Solveig van Nes, Tone-Kari Knutsdatter Østbye, Bente Ruyter, Jens-Erik Dessen, Inger Øien Kristiansen, Målfrid Bjerke og Kjell-Arne Rørvik		Rapportnr.: 27/2013
Avdeling: Produksjonsbiologi, Ernæring og fôrteknologi, Avl og genetikk		Tilgjengelighet: Åpen
Oppdragsgiver: Grieg Seafood Finnmark, FHF, RFF Nord		Dato: 10. juni 2013
Stikkord: Regnbueørret, fôroljer, fiskehelse, sjøtemperatur		Ant. sider og vedlegg: 31
Sammendrag/anbefalinger: <p>Innledende forsøk har gitt indikasjoner på at høy innblanding av vegetabiliske oljer i fôret kan påvirke regnbueørretens helse og vekst, særlig ved lave sjøtemperaturer. Hos laks har dette blitt satt i sammenheng med økt fettutskillelse fra lever, og dermed økt fett i blodbanen som kan lede til hjerte-/karsykdommer. Det ble derfor gjennomført et forsøk finansiert av FHF, RFFNORD og Grieg Seafood der regnbueørret i Finnmark ble gitt fôr med hhv. 70% eller 30% innblanding av vegetabilisk fôrolje, og tilsvarende lavt hhv. høyt EPA/DHA-nivå i fôret.</p> <p>Cellestudier på hjerte og lever viste trend til positiv effekt av høy innblanding av EPA/DHA i fôret, men det ble ikke påvist forskjeller i fettdeponering i lever. Videre ble det til tross for stor forskjell i EPA/DHA-nivå i fôrene ikke observert forskjeller i dødelighet hos regnbueørreten i Finnmark. En årsak kan være at dødeligheten var meget lav (<4%) selv på vinteren med sjøtemperaturer ned mot 3°C. En mulig forklaring på manglende klare negative effekter av lave EPA/DHA nivåer kan ha sammenheng med at vitale indre organer (spesielt hjertet) hos regnbueørreten i dette forsøket viste økt evne til å akkumulere EPA/DHA fra fôret nettopp ved lave andeler av disse fettsyrene i fôret. Således at 30% innblanding av marine oljer i dette prosjektet faktisk dekket behovet for disse vitale fettsyrene mht å opprettholde funksjonaliteten av hjertet og hindre økt dødelighet. Dette påpeker mulig viktige forskjeller mellom laks og regnbueørret i hvordan høye nivå av rapsolje i fôr påvirker fettdeponering i lever, og antyder at regnbueørret er mer tolerant for høy innblanding av vegetabiliske fôroljer/lave nivåer av EPA/DHA i fôr, hvilket kan være avgjørende kunnskap i oppdrettssammenheng. Samtidig viser dette behovet for oppfølgende (dose-respons)studier som kan dokumentere hvor eventuelt nedre grense mht. disse vitale fettsyrene i fôret går.</p> <p>Til tross for at det ikke ble påvist forskjeller i dødelighet, ble det påvist en signifikant bedre tilvekst for regnbueørret gitt forsøksfôr med økt innhold av EPA/DHA. I tillegg hadde forsøksgruppa en klar trend til bedre fôrfaktor enn kontrollgruppa. Dette antyder at selv om et høyt nivå av marine oljer ikke reduserte dødeligheten så kan det ha hatt en mulig helsegevinst som indirekte har gitt positivt utslag i form av økt tilvekst og fôrutnyttelse.</p>		Oppdragsgivers ref.: GSFF: Ørretprosjekt 2011-13; RFF Nord: 21 2376; FHF: 900764
		Prosjektnr. Nofima: 21239, 21256

Innhold

1	Bakgrunn	1
1.1	Resultater fra innledende forprosjekt på regnbueørret i 2010.....	2
1.2	Mulig årsakssammenheng mellom hjertelidelser og fôr.....	5
2	Prosjektmål nytt feltforsøk/hovedprosjekt med oppstart i 2011	9
2.1	Hovedmål	9
2.2	Delmål.....	9
2.3	Forventet nytteverdi	9
2.4	Prosjektgruppe	10
2.5	Styringsgruppe.....	10
3	Prosjektgjennomføring.....	11
3.1	Gjennomføring	11
3.1.1	Fiskegrupper, lokaliteter og tidsramme	11
3.1.2	Forsøksdesign	11
3.1.3	Appetitt, tilvekst, vektutvikling og dødelighet	12
3.1.4	Regelmessige uttak av fisk og analyser for dokumentasjon av effekter av ulike oljesammensetning i fôr	12
3.1.5	Dokumentasjon av cellefunksjon i hjerte og lever ved lav sjøtemperatur.....	13
3.1.6	Fôr og kvalitetssikring.....	14
4	Resultater og Diskusjon	15
4.1	Produksjonsdata gjennom forsøksperioden (Basert på tilsendte uke rapporter)	15
4.1.1	Dødelighet	15
4.1.2	Fôrintak, tilvekst og vektutvikling	15
4.1.3	Oversikt produksjonsdata med statistikk	17
4.2	Kvalitetssegenskaper	18
4.2.1	Endring i pigment og muskelfett	19
4.2.2	Endring i kondisjonsfaktor og sløyesvinn	20
4.2.3	Endring i totalfett i hjerte	21
4.2.4	Endring i CSI	21
4.2.5	Fettnivå i lever	22
4.2.6	Oversikt kvalitetsdata med statistikk	23
4.3	Fettsyreprofil; EPA/DHA i fôr og vev	23
4.3.1	Analyserte verdier av EPA/DHA i fôr	23
4.3.2	Andel EPA/DHA av fettsyrer i fôr og vev i sluttuttak.....	23
4.3.3	Oversikt fettsyreprofil med statistikk.....	25
4.4	<i>In vitro</i> studier av cellefunksjon og studier av genuttrykk i hjerte og lever	25
4.4.1	Analyse av lipidmetabolisme i leverceller fra ørret.....	25
4.4.2	Analyse av lipidmetabolisme i hjerteceller fra ørret	27
4.4.3	Konklusjon cellekulturer	28
5	Oppsummering og konklusjoner	29
6	Referanser	31

1 Bakgrunn

Grieg Seafood har en betydelig produksjon av regnbueørret på sine lokaliteter i Honningsvåg. Beliggenheten i Finnmark og de ekstreme naturgitte miljøbetingelsene setter store utfordringer i å drive oppdrett.

Vinteren 2009/2010 observerte Grieg Seafood Finnmark (GSFF) deforme hjerter, økt dødelighet, vekststagnasjon og ekstremt dårlig fôrutnyttelse på regnbueørreten i Honningsvåg. Den økte dødeligheten ble hovedsakelig observert av arteriosklerose. I denne perioden benyttet Grieg et kommersielt fôr med et høyt innhold av vegetabiliske oljer (70 %). Høy dødelighet, spesielt når dette også inntreffer på stor regnbueørret, fører til økte/høye produksjonskostnader. Teoretisk sett er det riktig å blande inn rapsolje i fiskefôret, både med tanke på å oppnå et mer optimalt smeltepunkt på fôrfettet, men også med tanke på bærekraftig fôrsammensetning. Men dersom vegetabiliske oljer har potensielt negative effekter på regnbueørreten, må nivået i fôret balanseres opp i mot slik kunnskap.

GSFF har som mål å være et kunnskapsbasert oppdrettsselskap med kontrollert og mest mulig optimal produksjon gjennom hele produksjonsfasen. De ønsket derfor økt kompetanse om underliggende faktorer til de observerte utfordringene. Først og fremst med hensyn til fiskevelferd (reducere dødeligheten og andel regnbueørret med avvikende hjerteform), men også med hensyn til økte produksjonskostnader og redusert forutsigbarhet i salgsinntekter og leveringsdyktighet. GSFF tok derfor kontakt med Nofima i 2010 med ønske om et forskningssamarbeid for å opparbeide kompetanse om underliggende faktorer til utfordringene med hjertefeil, økt dødelighet og redusert vekst, og sette dette i sammenheng med mulighet for å utvikle et mer dynamisk fôrkonsept tilpasset det ekstreme miljøet i nord.

Et innledende skattefunn-prosjekt (ES467951) i tidsperioden mai-desember 2010, med Nofima som FoU-partner, viste at deforme hjerter hadde lavere vekt, høyere fettinnhold og en annen fetttsyreprofil enn normale hjerter. Med fallende sjøtemperatur høsten 2010 ble det observert en statistisk sikker lavere dødelighet (dødsårsak var arteriosklerose/åreforkalkning i hjertet) hos regnbueørret gitt forsøksfôr med et høyere EPA/DHA nivå sammenlignet med det kommersielle kontrollfôret. Endringene i fôret resulterte også til økt vekst, bedre fôrutnyttelse og høyere slakteutbytte.

Nofima har studier på oppdrettslaks som viser at høye nivåer av vegetabiliske oljer i fôret kan føre til fettdråper i indre organer, spesielt ved lave sjøtemperaturer ned mot 5 °C. (Snittemperatur over året hos Grieg Seafood i Honningsvåg var i 2010 5,8 °C). Videre at fettinnholdet i leverceller var lavere for laks gitt økt EPA/DHA nivå i fôret. Planteolje, sammenlignet med marin olje, førte til økt fettsekresjon fra leverceller, som i stor grad bestemmer fettnivå i blodbanen, som igjen kan indikere økt risiko for hjerte/kar sykdommer.

Basert på resultatene fra forprosjektet sett i sammenheng med de lave sjøtemperaturene i Finnmark om vinteren, ønsket derfor Grieg å fortsette arbeidet med å dokumentere om kombinasjonen høyt nivå av vegetabiliske råvarer (som nå har blitt vanlig i fiskefôr) og lave sjøtemperaturer på lokaliteten, øker risikoen for hjertelidelser, dødelighet og økte produksjonskostnader i oppdrett av regnbueørret.

Et oppfølgende feltforsøk i kommersiell skala («Hovedprosjektet») ble derfor gjennomført der fisken ble fulgt fra ca 0,5kg rundvekt i august 2011 og fram til slakt vinteren 2012/2013. Feltforsøket var hovedsakelig et skatteFUNN prosjekt med egeninnsats fra GSFF. Men da disse problemstillingene

ikke er spesifikke for GSFF, men trolig er av stor betydning for oppdrett i de kalde nordområdene generelt, ønsket Grieg åpenhet om resultatene. Av den grunn ble FHF invitert til å delta i prosjektet, både for å sikre næringsrelevanse av prosjektet, men også som finansiell bidragsyter.

Videre søkte Nofima i den forbindelse regionale fondsmidler for dekning av nødvendige og omfattende analysekostnader der man bl.a. planla å dyrke celleprøver av ørrethjerter ved ulike temperaturer. Denne søknaden ble innvilget av det Regionale Forskningsfondet i Nord Norge (Prosjekt nr. 212376 – RFFNORD) med en total budsjetttramme på kr. 500.000 for perioden august 2011 til august 2012. Grieg Seafood bidro med 50 % av budsjettet i dette forskningsprosjektet.

På den måten var det et nært samarbeid mellom hovedprosjektet (feltprosjektet; som gjennomførte den driftsmessige delen av fôringsforsøket inkl. fôranalyser, registreringer av avvikende hjerteform, dødelighet og produksjonsdata) og det regionale forskningsprosjektet (analyser på regnbueørret).

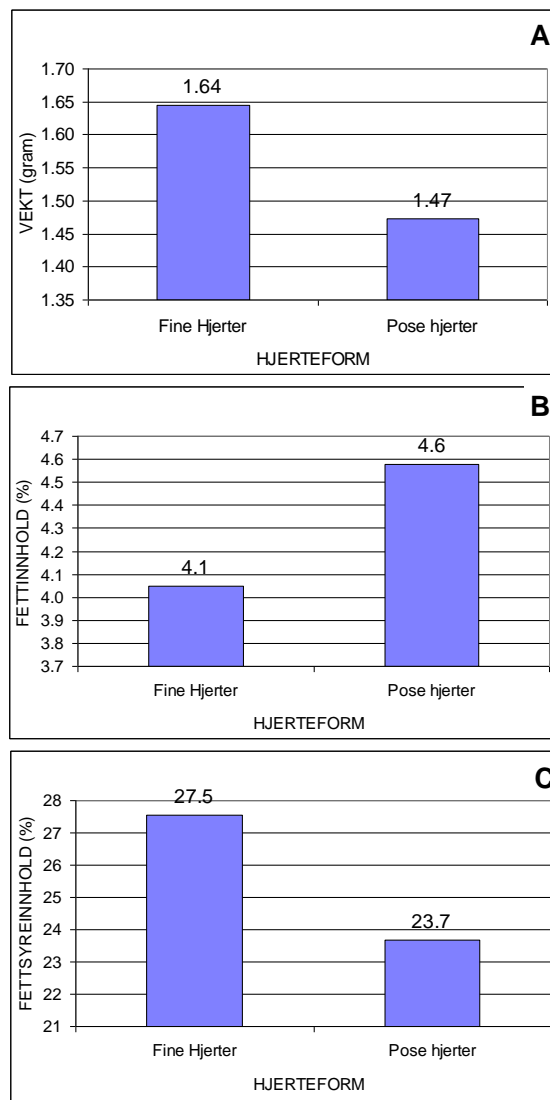
Dette muliggjorde en evaluering av analyseresultatene fortløpende opp mot registreringer av avvikende hjerteform, dødelighet og produksjonsdata i feltforsøket.

Økt kompetansen om lokale og varierende biologiske forhold, samt optimalisering av produksjonen basert på ny kunnskap vil være viktig for å kunne opprettholde en stabil, forutsigbar og kostnadseffektiv produksjon av regnbueørret i Nord.

1.1 Resultater fra innledende forprosjekt på regnbueørret i 2010

Grieg Seafood Finnmark startet et innledende prosjekt våren 2010 (skattefunn-prosjekt ES467951: "Kunnskap om avvikende hjerteform sett i sammenheng med redusert vekst og dødelighet i regnbueørret") på lokalitet Misjona (senere ble ørreten flyttet til lokalitet Storvika) i Honningsvåg. FoU-partner var Nofima marin. Hovedmålet var å undersøke en mulig sammenheng mellom avvikende hjerteform, fettnivå og fettsyreprofil i hjertene, og dødelighet relatert til lave sjøtemperaturer. Et annet delmål var å følge regnbueørreten med månedlige uttak fra juni 2010 fram til slakt vinteren 2010/2011, mht generelle produksjons- og kvalitetsparametere.

Hjerter fra 40 regnbueørret som hadde fått det samme fôret med 70 % rapsolje (før introduksjon av forsøksfôr) ble sortert i tre kategorier etter utseende (normale, middels og "poseformede" hjerter). Vekten på hjertene avtok med økende grad av deformitet (Fig. 1A). Analyser av fettinnhold (Fig. 1B) og fettsyreprofil (Fig. 1C) viste at de poseformede hjertene hadde høyere fettinnhold enn normale hjerter og en annen fettsyreprofil (lavere nivå av Omega-3/DHA). At andelen av den flerumettede omega-3 fettsyren DHA går ned stemmer med at det er mer fett i disse hjertene. Mer fett er en øking i lagerfett, dvs i triglyserider, som inneholder relativt lite DHA. Det kan også tyde på at fosfolipidene (fettsyrer i celleveggen) i hjertet inneholder mindre DHA, noe som i tilfelle kan være uheldig. I tillegg, økt nivå av tungt nedbrytbare fettsyrer (spesielt C22:1) kan indikere at regnbueørret med avvikende hjerteform sliter med å forbrenne fettsyrene som tas opp i hjertet.



Figur 1 A) Vekt, B) fettinnhold og C) innhold av omega-3 fettsyren DHA i fine hjerter og i avvikende poseformede hjerter hos regnbueørret tatt ut i juni i 2010

I forsøksperioden ble det benyttet to fôrtyper, begge med 50 % innblanding av rapsolje, ett kommersielt kontrollfôr og ett forsøksfôr med bare marine proteinråvarer og en økt proteinandel sammenlignet med kontrollgruppa. To merder (5105 og 5106) fikk kontrollfôr og to merder (5107 og 5108) fikk forsøksfôr. Pga. bruk av fiskemel i forsøksfôret hadde dette fôret et høyere innhold av EPA/DHA enn kontrollfôret (Tabell 1).

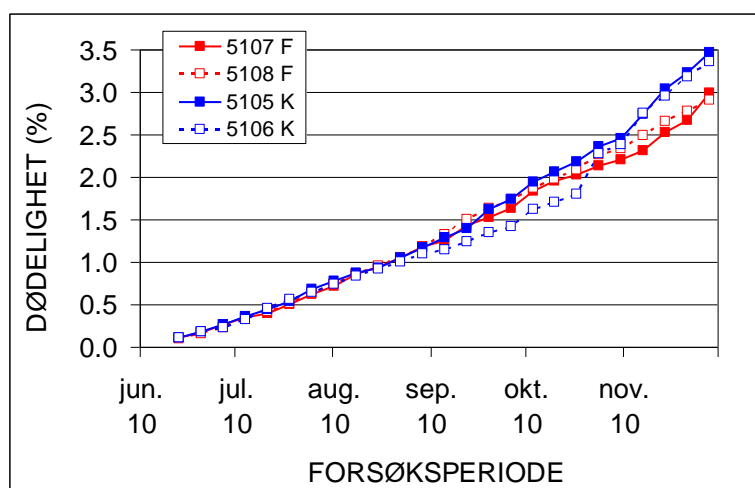
Tabell 1 EPA/DHA-nivå i fôroljer og i kontroll og forsøksfôret 2010

FÔRTYPE	EPA/DHA % OLJE	EPA/DHA % FÔR
KONTROLL	7,9	2,8
FORSØK	11,6	4,1

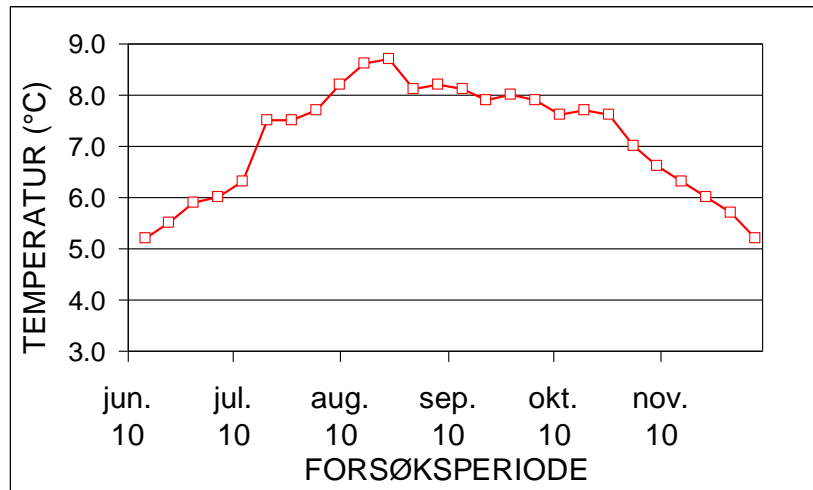
I perioden etter start av det innledende forsøket i juni 2010 ble det observert få regnbueørret med avvikende hjerteform. Imidlertid, sammenfallende med nedgangen i sjøtemperatur i november ble det observert en stor andel hjerter med blodfylte arterier (Fig. 2) og enkelte med et synlig fettlag på utsiden. Det ble observert økt dødelighet ved fallende sjøtemperatur og i november var det en statistisk sikker lavere akkumulert dødelighet hos regnbueørret gitt forsøksfôr sammenlignet med regnbueørret som fikk det kommersielle kontrollfôret (Fig. 3 og 4). Etter start av slaktingen i desember var det ikke lenger statistisk grunnlag for å sammenligne gruppene.



Figur 2 Eksempler på hjerter hos regnbueørret med blodfylte atrier (kuttet i hjertet til høyre skyldes en kniv)



Figur 3 Utvikling i akkumulert dødelighet hos regnbueørreten i det innledende prosjektet fram til start av slaktingen. F= Forsøksmerdene, K= Kontrollmerdene



Figur 4 Oversikt over sjøtemperaturen på lokaliteten(e) gjennom forsøksperioden

Årsaken til dødeligheten på regnbueørreten ble diagnostisert til å være arteriosklerose. Arteriosklerose er kjent fra kjønnsmoden stillehavslaks (som dør etter gyting) ved at det oppstår omfattende nedbrytende forandringer i hjertemuskulaturen som følge av tilstopping av blodårer som forsyner den ytre del av hjertemuskelen med blod.

Når det gjelder de produksjonsrelaterte resultatene så ble det observert 6,5 % bedre vekst hos regnbueørret gitt forsøksfôr enn i kontrollgruppa, i tillegg var fôrfaktoren bedre/lavere (Forsøk=1,38 vs. Kontroll=1,45) og slakteutbyttet noe høyere (Forsøk=84,3 % vs. Kontroll=83,0 %). Siden regnbueørreten i det innledende forsøket ble slaktet til ulike tider, vil opplysninger om rundvekt ved slakt både være avhengig av tid i sjø fram til slakt og veksthastighet. For å gi et best mulig objektivt estimat på hvor mye større forsøksfisken ville vært dersom kontroll- og forsøksgruppene hadde blitt slaktet samtidig, må man gjøre teoretiske beregninger der begge grupper starter på samme vekt og avsluttes på samme tid (samme sum døgngrader, DGR). Dersom man teoretisk kan tenke seg at de vekstfordelene vi påviste fra 2 kilo i juni 2010 også gjelder hele sjøfasen, og vi starter med utsett av 50 grams regnbueørret (som var snittvekten på ørreten ved utsett høsten 2008) og DGR er 4500 (snitt av de fire merdene i prosjektet), så vil vektøkningen for gruppene som fikk forsøksfôret være på 488 gram (Forsøk=3641 gram vs. Kontroll=3153 gram). For å illustrere den økonomiske betydningen av et økt slakteutbytte på 1,3 % så vil det bety ca. 5 tonn ekstra sløyd regnbueørret for salg pr. merd (beregningene bygger på et snitt av alle de fire merdene i det innledende prosjektet mht nettovekt ved slakt og antall fisk). Til sist, fôrfaktorene var generelt høye noe som kan tyde på at fôrutnyttelsen, i alle fall i perioder, var redusert.

1.2 Mulig årsakssammenheng mellom hjertelidelser og fôr

Skader og lidelser relatert til hjerte er ofte rapportert i oppdrett av atlantisk laks. Slike sykdommer kan være relatert til infeksjoner, men også ha sin opprinnelse fra andre mer hittil ukjente produksjonsrelaterte lidelser (Kongetorp m. flere. 2006; Lillehaug og Skrudland 2006). Sykdommen "Hjerte og skjelettmuskel-betennelse" (HSMB) rammer hjerte og skjelettmuskelen. Sykdommen starter som en subklinisk betennelse i hjertet, men påvirker i senere stadier også andre organer. Som for produksjonslidelser generelt, kan stress gjøre oppdrettsfisk mer mottakelig for slike sykdommer. En slik sykdom/lidelse kan være hjertespreng (CMS) som er karakterisert ved nedbryting av

hjertermuskelen og bortfall av vev, noe som kan føre til akutt dødelighet (Ferguson m. flere, 1990). Dødeligheten i det innledede forsøket var diagnostisert til å være forårsaket av arteriosklerose på regnbueørreten. Arteriosklerose er kjent fra kjønnsmoden stillehavslaks (som dør etter gyting) ved at det oppstår omfattende nedbrytende forandringer i hjertermuskulaturen som følge av tilstopping av blodårer som forsyner den ytre del av hjertermuskelen med blod. Disse forandringene skal ha mange fellestrekk med arteriosklerose (åreforkalking) hos mennesker, der avleiringer av fett og kolesterol danner plakk (avleiringer) som kan føre til tilstopping av arterier. Hos kaniner og gris er det vist at behandling med den bioaktive fettsyren TTA, som bla øker fettforbrenningen, fører til mindre innsnevring av arteriene (arbeid utført ved Haukeland sykehus, Bergen). I Nofima er det gjennomført en PhD-grad på effekten av TTA der det bla. ble dokumenter at tilsetning av denne fettsyren i fôr til laks reduserer dødelighet forårsaket av HSMB (Alne m. flere, 2009).

Oppdrettsfisk ser ut til å ha en noe mindre relativ hjertestørrelse enn vill fisk av samme størrelse. Avvikende hjerteform (poseform, som vi fant innledningsvis på regnbueørreten fra Honningsvåg) ble videre observert i denne studien. Plutselig død er ofte knyttet til aktiviteter som forårsaker stress (transport, sortering, veiing, etc.) og er blitt tilskrevet "feil" i hjerte og sirkulasjonssystemet (Tørud og Hillestad 2004, Seierstad 2008), der en rekke faktorer (infeksjon, miljø, genetikk og ernæring) er ansett som risikofaktorer for kroniske hjertelidelser. I tråd med kunnskap fra menneske er fôrets innhold av fett, og spesielt forholdet mellom n-6/n-3 fettsyrene (som endres ved innblanding av vegetabiliske oljer), blitt foreslått å spille en avgjørende rolle i utviklingen av hjertelidelser hos laks.

Nofima har gjennomført studier som viser at høye nivåer av vegetabiliske oljer i fôret kan føre til akkumulering av fettdråper i indre organer hos oppdrettslaks. I et forsøk der effekt av sjøtemperatur og innblanding av soyaolje i fôr til laks ble undersøkt viste Ruyter m. flere (2006) at laks ved 5 °C og som hadde fått 100 % soyaolje (SO) i fôret hadde signifikant høyere fettinnhold i leveren enn laks som hadde fått 100 % fiskeolje (FO) eller 50 % SO. Ingen slik effekt ble påvist ved en sjøtemperatur på 12 °C (Fig. 5).

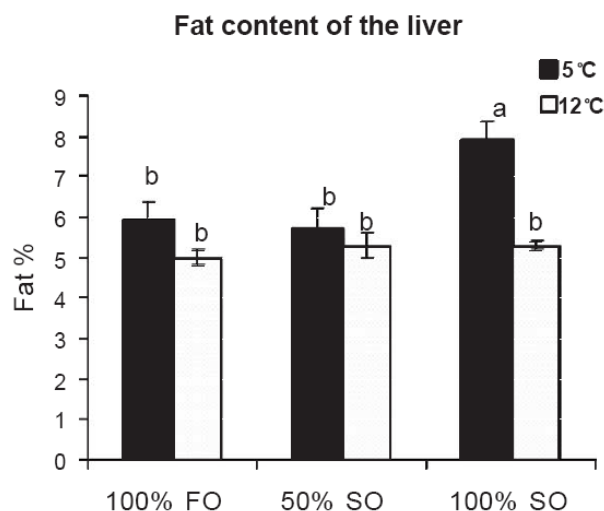


Fig. 1. Fat content (%) of the liver. Atlantic salmon were fed either 100% FO (100% fish oil diet); 50% SO (50% soybean oil diet) or 100% SO (100% SO diet), and the fish were kept at 5 or at 12 °C. Different letters indicate significant differences ($P \leq 0.05$). Data are means \pm SEM ($n=3$).

Figur 5 Fettinnhold i lever hos laks fôret ulike dietter – se tekst. Figur 1 fra Ruyter m. flere (2006)

Leversnitt fra disse fiskegruppene, farget med toluidin blå og alkalisk fuksin som synliggjør fettakkumulering som en grønn farge, viste ingen eller svært lite grønnfarge i lever hos laks holdt ved 12 °C (Fig. 6A), men sterk farge for fettakkumulering hos 100 % SO dietten (Fig. 6B) og mer moderat for 100 % FO gruppa ved 5°C (Fig. 6C).

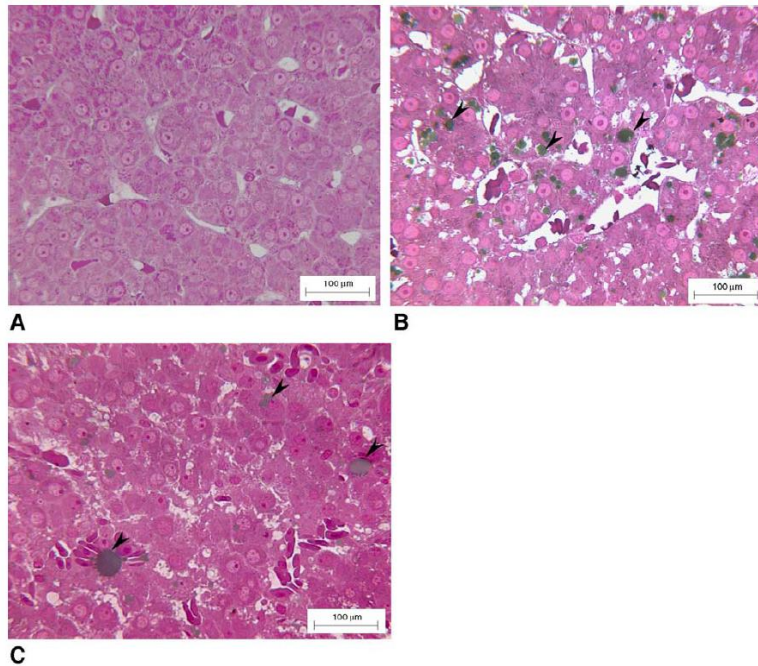


Fig. 4. Sections of liver from salmon fed either 100% fish oil (100% FO) or 100% soybean oil (100% SO) and kept at 5 or 12 °C. Staining with a mixture of toluidine blue O and alkaline fuchsin gives lipid accumulations a green colour (arrowheads). Hepatocytes from both feeding groups kept at 12 °C showed no or very little staining; an example from 100% SO fed fish is shown (A). Hepatocytes from fish fed the 100% SO diet and kept at 5 °C were strongly stained for lipids (B), whereas hepatocytes from fish fed the 100% FO diet and kept at 5 °C were more moderately stained (C). Bars=100 µm.

Figur 6 A, B, C. Leversnitt fra laks føret ulike dietter – se tekst. Figur 4 fra Ruyter m. flere (2006)

I denne forsøksserien hos Nofima ble det også dokumentert at økt fettavleiring ved høy innblanding av vegetabilsk olje kunne ha sammenheng til redusert nivå av n-3 fettsyrene EPA og DHA i føret (Kjær m. flere 2008). I dette forsøket ble laks gitt fire ulike føer, enten fiskeolje, rapsolje (RO), EPA-anriket olje eller DHA-anriket olje. Ved å bestemme fettarealet i leverceller innsamlet fra de ulike fiskegruppene fant man høysignifkant økt fettareal hos laks som hadde fått RO (Fig. 7A). De fant også et meget lavt fettareal i levercellene hos laks gitt olje anriket med EPA (Fig. 7A). Ved bruk av elektronmikroskopi ble det videre påvist størst mitokondrie-areal hos laks som hadde fått EPA-anriket olje. Mitokondriene er "energifabrikken" i cellene og det ble påvist signifikant høyere areal i leverceller fra laks gitt EPA-anriket olje, sammenlignet med laks som hadde fått rapsolje (Fig. 7B).

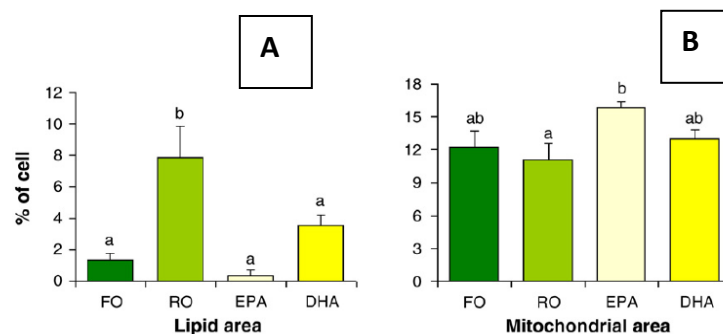


Fig. 4. Lipid and mitochondrial areas in hepatocytes. Lipid and mitochondrial areas of hepatocytes were determined morphometrically. Three fishes per dietary group, and an average of 15 micrographs were analysed per fish. The values shown are the areas of lipid or mitochondria relative to the total cell area (excluding the nuclei). The values given are means \pm SEM ($n=3$). Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.05$). FO=fish oil diet; RO=rapeseed oil diet; EPA=EPA-enriched oil diet; DHA=DHA-enriched oil diet.

Figur 7 A og B. Fett (lipid)- og mitokondriareal i leverceller hos laks gitt fôr med ulik olje. Figur 4 fra Kjær m. flere (2008)

Resultatene fra dette forsøket viste videre at fettsyresammensetningen i fôret markert influerer den endogene fettsyresammensetningen og fettinnholdet i leverceller hos oppdrettslaks. I tillegg var sekresjonen av glycerolipider fra levercellene lavere hos laks fôret med de anrikede EPA- og DHA-diettene, sammenlignet med RO-dietten. Fettsekresjon fra lever til blodbanen bestemmer i stor grad fettnivået i blodbanen. Høyt fettnivå i blodbanen er vist å være en meget viktig risikofaktor for dannelsen av arteriosklerotiske plakk og forekomst av hjerte-karsykdom i mennesker. Denne sammenhengen er foreløpig ikke påvist i fisk, men våre data (Kjær m. flere, 2008, Vegusdal m. flere, 2005) viser at planteolje, sammenlignet med marine olje, fører til økt fettsekresjon fra leverceller hos laks, som igjen kan indikere økt risiko for dannelse av arteriosklerotiske plakk. Sammenfattet tyder resultatene på at EPA og DHA har ulike fettregulerende egenskaper. Både EPA og DHA inhiberer syntese og sekresjon av fett (triglyserider), men det er bare EPA som øker antall mitokondrier og dermed gir økt fettforbrenningskapasitet.

2 Prosjektmål nytt feltforsøk/hovedprosjekt med oppstart i 2011

2.1 Hovedmål

Hovedmålet med disse prosjektene er å dokumentere om og i hvor stor grad høye nivåer av rapsolje i fôret, i kombinasjon med lave sjøtemperaturer, øker risikoen for hjertelidelser, dødelighet og økte produksjonskostnader i oppdrett av regnbueørret på Grieg Seafood's lokaliteter i Finnmark. Prosjektene er en videreføring av forprosjekt 21061 som ble ferdigstilt i 2010.

Slik kunnskap er avgjørende for å kunne redusere utfordringene med deforme hjerter, økt dødelighet og nedsatt fôrutnyttelse, og vil være et viktig verktøy for oppdrettere under slike ekstreme miljøer i nordområdene til å forbedre produksjonen mht fiskevelferd, overlevelse, vekst og kostnadseffektivitet.

2.2 Delmål

- 1) Dokumentere om et høyt nivå av rapsolje påvirker cellefunksjon i hjerte og lever (analysert som fettforbrenningskapasitet og genuttrykk av stress- og betennelsesmarkører).
- 2) Dokumentere om et høyt nivå av rapsolje i fôr til regnbueørret, kombinert med lave sjøtemperaturer, øker risikoen for hjertelidelser og dødelighet (fortrinnsvis forårsaket av arteriosklerose).
- 3) Dokumentere om effekten av høyt nivå av rapsolje i fôr til regnbueørret på fett og fettsyreprofil i lever og hjerte øker med fallende sjøtemperatur
- 4) Dokumentere eventuelle effekter på produksjonsegenskaper sett i sammenheng med et høyt nivå av rapsolje i fôret.
- 5) Dokumentere endringer i pigment (viktig antioksidant), fett og fettsyreprofil i ørretmuskel som følge av fôrendringer.
- 6) Øke kompetansen hos alle ansatte om produksjon av regnbueørret under de ekstreme produksjonsmessige forholdene som eksisterer i Finnmark

2.3 Forventet nytteverdi

I dag produserer fôrleverandørene stort sett de samme fôrene over hele Norge. Et viktig aspekt i dette prosjektet blir derfor å undersøke om det arktiske miljøet i Finnmark krever spesielle produksjonsmessige løsninger og en fôrsammensetning tilpasset dette miljøet. Teoretisk er det riktig å blande inn rapsolje i fiskefôret om vinteren for å få et så lavt smeltepunkt på fôrfettet at dette ikke "stivner" i tarmen på fisken, men dersom vegetabiliske oljer har så negative effekter på regnbueørreten som våre innledende studier kan tyde på, må nivået i fôret balanseres opp mot slik kunnskap.

Dersom prosjektet blir vellykket ønsker deltagerne i prosjektet, sammen med Nofima, å utvikle et innovativt og klimatilpasset dynamisk fôrkonsept for oppdrett av regnbueørret spesielt, men også

oppdrett generelt. Vi mener at dette kan gi et viktig bidrag til verdiskapning i det naturgitte arktiske oppdrettsmiljøet i nord.

Prosjektet vil fremskaffe helt ny og åpen kunnskap om samspillet mellom hjertelidelse, dødelighet, fôrutnyttelse og vekst på den ene siden og fôrsammensetning og sjøtemperatur på den andre siden. I tillegg er prosjektet en forutsetning for å kunne gjennomføre det innvilgede regionale forskningsprosjektet mht. viktig grunnleggende forståelse av hjertelidelser i nord relatert til fetttsyresammensetning i fôret.

Implementering av denne nye kunnskapen i fremtidig produksjonsmetode vil utgjøre en stor forbedring i form av en langt mer dynamisk og kostnadseffektiv produksjon av regnbueørret i Finnmark som er bedre tilpasset og mer i takt med lokale endringer i miljøet.

Innovasjonsgraden i prosjektet vil hovedsakelig være å utvikle en bedre forståelse av sammenheng mellom vegetabiliske fôrråvarer i kombinasjon med ekstreme sjøtemperaturer mht regnbueørretens velferdsmessige, helsemessige og fysiologiske tilstand

2.4 Prosjektgruppe

Grieg Seafood Finnmark

Tor Eirik Homme, Direktør Fôr og Ernæring tor.eirik.homme@griegseafood.com

Randi Rydland, Produksjonssjef Finnmark randi.rydland@griegseafood.com

Nofima

Solveig van Nes, Seniorforsker solveig.van-nes@nofima.no

Kjell-Arne Rørvik, Professor kjell-arne.rorvik@nofima.no

Bente Ruyter, Seniorforsker bente.ruyter@nofima.no

Tone-Kari Knutsdatter Østbye, Forsker tone-kari.ostbye@nofima.no

Jens-Erik Dessen, Forsker jens-erik.dessen@nofima.no

2.5 Styringsgruppe

Tor Eirik Homme, Grieg Seafood ASA tor.eirik.homme@griegseafood.com

(Leder for styringsgruppe)

Tommy Hansen, Nordlaks AS tommy.hansen@nordlaks.no

Harald Sveier, Lerøy Seafood Group ASA harald.sveier@leroy.no

Merete Bjørgan Schrøder, FHF merete.shroder@fhf.no

Fagsjef Fiskehelse, Sjømat og Helse, er Observatør i styringsgruppe

3 Prosjektgjennomføring

3.1 Gjennomføring

3.1.1 Fiskegrupper, lokaliteter og tidsramme

Prosjektperiode: 2011.05.01 – 2013.05.31 (FHF: 2012.02.15 - 2013.05.31)

Fiskegrupper, lokaliteter og tidsramme

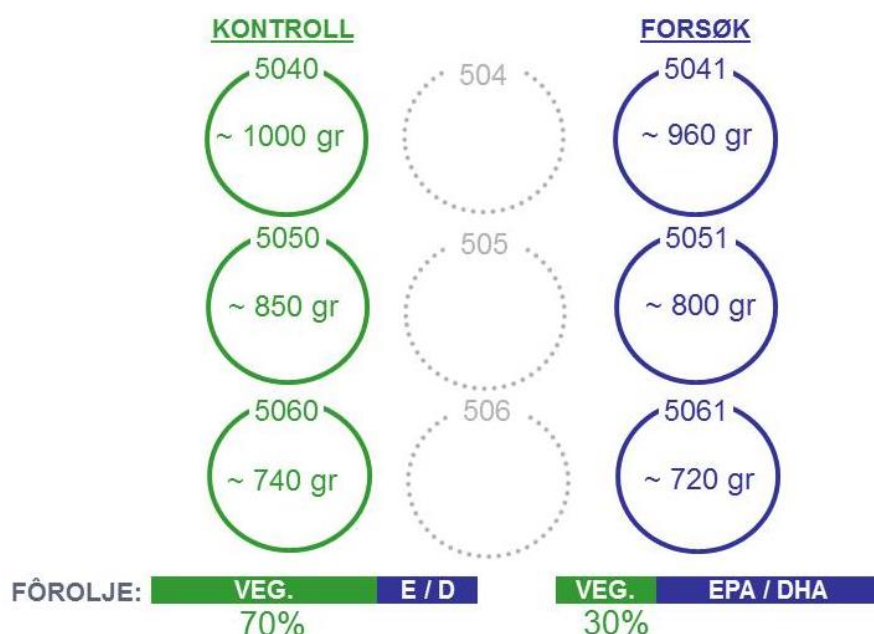
Prosjektet ble påbegynt med planleggingsaktiviteter og forberedelser våren 2011.

Feltforsøket ble gjennomført på lokalitet Laholmen beliggende i Lafjorden, Finnmark.

Det ble benyttet regnbueørret som ble satt ut høsten 2010. Feltforsøket/fôringforsøket med forskjellig sammensetning av fôroljer ble gjennomført i perioden uke 36 (september) 2011 og fram til slakt vinteren 2012/2013.

3.1.2 Forsøksdesign

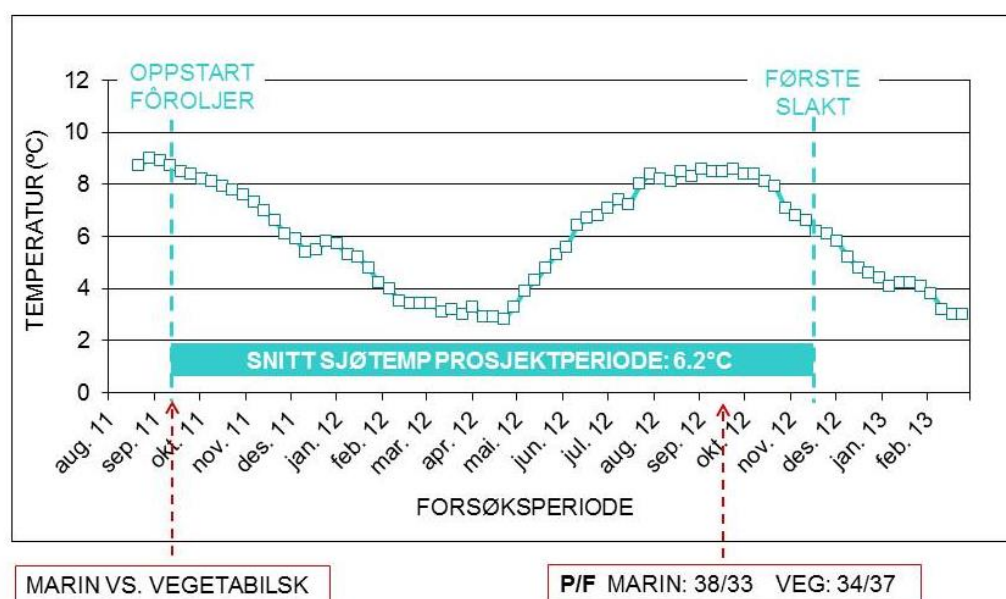
Det ble i prosjektet benyttet 6 merder: 3 opprinnelige merder ble splittet i 2, der ørret i den opprinnelige merden ble kontrollgruppa, mens ørret overført til ny merd ble forsøksgruppa. Slik ble det totalt 3 kontrollmerder og 3 forsøksmerder per behandling/fôrtype (Fig 8). Dette for å gi nødvendig sikkerhet i den statistiske analysen og dermed øke forståelsen av resultater/forskjeller mellom grupper.



Figur 8 Forsøksoppsett på lokalitet Laholmen i Lafjorden. Tre opprinnelige merder er fordelt i 3 kontroll og 3 forsøksmerder med ulik innblanding av vegetabiliske oljer

Kontrollgruppa gikk i hele forsøksperioden på standard fôringsregime for GSFF med høy innblanding av vegetabilsk olje i fôrfettet (70% raps). Samtidig fulgte forsøksgruppa et optimalisert/endret fôringsregime (70% Sør Amerikansk olje og dermed betydelig høyere nivåer av EPA/DHA i fôret).

Fra og med midten av september 2012 ble det i tillegg gjort endringer i sammensetning av hovednæringsstoffer mellom grupper (Fig 9): Kontrollfiskene fortsatte på et standard vekstfôr for ørret hos Grieg (34% protein og 37% fett), mens forsøksfiskene gikk over på et noe magrere fôr og med høyere andel protein (38% protein og 33% fett). Dette for å dreie forsøksgruppen i retning av bedre vekst og slakteutbytte (mindre fett i fisk og indre organer) i den siste forsøksperioden. Forskjellen i fettkilde/sammensetning av oljeblanding i fôret ble opprettholdt, slik at hovedproblemstillingen vedrørende EPA/DHA ikke ble endret.



Figur 9 Utvikling i sjøtemperatur på lokalitet Laholmen i forsøksperioden. Forskjeller i sammensetning av fôroljer ble påbegynt i uke 36/september 2011. Endringer i sammensetning av hovednæringsstoffer ble påbegynt i midten av september 2012

3.1.3 Appetitt, tilvekst, vektutvikling og dødelighet

Det ble utført rutinemessige daglige registreringer av miljødata (sjøtemperatur) og produksjonsdata (utfôring, dødelighet) som ble rapportert ukentlig fra biologisk kontroller hos oppdretter til Nofima. Basert på tilsendte data predikerte Nofima akkumulert dødelighet, appetitt/relativ utfôring (SFR) og tilvekst (VF3/TGC). Prediksjonene kunne indikere om forskjeller i sammensetning av fôroljer hadde en positiv effekt på de nevnte produksjonsparameterene (Kap 4, Fig 10 t.o.m. 14).

3.1.4 Regelmessige uttak av fisk og analyser for dokumentasjon av effekter av ulike oljesammensetning i fôr

Det ble gjort regelmessige uttak av 10 fisk per merd som representerte gjennomsnittlig rundvekt av merd (Tab 3) for analyser/registrering av:

- 1) Registrering utført på hel fisk:
 - Rundvekt
 - Sløydvekt
 - Lengde
 - Beregning av kondisjonsfaktor og utbytte/svinn
- 2) Analyse utført på muskel/filet:
 - Fett i NKS-kotelett (viktig kvalitetsegenskap samt mål på energinivå, målt med PhotoFish*)
 - Farge og pigment (viktig kvalitetsegenskap, målt med PhotoFish*)
- 3) Analyse utført på hjerte:
 - Hjertevekt i forhold til fiskevekt (cardiosomatisk index, CSI)
 - Visuelle avvik i hjerteform (pære/rør, normal)
 - Visuelt synlig fettdeponering på utside av hjerte
 - Fettsyreprofil (kjemisk analyse, Folch)
- 4) Ved utvalgte tilfeller og ifm slakt ble det i tillegg utført analyser av fettsyreprofil i muskel og lever (viktig kvalitetsegenskap samt mål på retensjon av EPA/DHA).

**PhotoFish = Digital bildeanalyse*

Alle uttak til og med siste høst (21.august 2012) ble utført på alle 6 merder (dvs. 3 forsøks- og 3 kontrollmerder). Det siste uttaket ble utført på 4 representative merder (2 forsøk og 2 kontroll). Dette fordi slakt av kommersielle produksjonsårsaker måtte påbegynnes på de to merdene med størst snittvekt allerede i november. Da det var ønskelig å gjøre det siste uttaket ved kaldest mulig sjøtemperatur (se også punkt 3.1.5), ble sluttuttaket utført så tett innpå utslakt av resterende 4 merder som mulig da forventet sjøtemperatur skulle være lavere i slutten av desember (se tabell 3 i resultatdelen for uttaksdatoer og snittvekter).

3.1.5 Dokumentasjon av cellefunksjon i hjerte og lever ved lav sjøtemperatur

Lever- og hjerteceller ble isolert fra 6 ørret fra hver fôrgruppe etter «første vinter» i sjø (januar 2012, 1.5kg rundvekt) og ved inngang til andre vinter i sjø (desember 2012, 4,5kg rundvekt).

Cellene ble transportert til Ås og inkubert med radioaktivt substrat for in vitro studier av forbrenningskapasitet som et mål på lipidmetabolisme og cellefunksjon:

Leverceller ble dyrket med radioaktivt merket glyserol. Radioaktivt glyserol tas opp i leverceller og benyttes som substrat i cellens produksjon av glyserolipider (fosfolipider, triglyserider og monoglyserider). Glyserolipider kan enten lagres i cellen eller sekreseres ut til cellemidiet.

Hjerteceller ble dyrket med radioaktiv palmitinsyre (14C-16:0). Palmitinsyre er et godt substrat for mitokondrienes fettforbrenning, men kan også foresteres til mer komplekse lipider som fosfolipider, triglyserider og monoglyserider i cellen.

Fra uttakene ble det også isolert RNA fra leverbiopsier for å analysere uttrykk av gener involvert i fettforbrenning.

Dette ble gjort for å dokumentere hvorvidt et høyt nivå av rapsolje i fôr til regnbueørret, kombinert med lave sjøtemperaturer, påvirker hjertecellers og levercellers funksjon og på så måte kan være underliggende faktorer for utvikling av hjertelidelser og dødelighet (fortrinnsvis forårsaket av arteriosklerose).

3.1.6 Fôr og kvalitetssikring

Anbefalt fôrsammensetning av forsøksfôr ble i prosjektperioden fortløpende avklart med operativt ansvarlig driftsleder og i god tid før endringer i sammensetning skulle utføres.

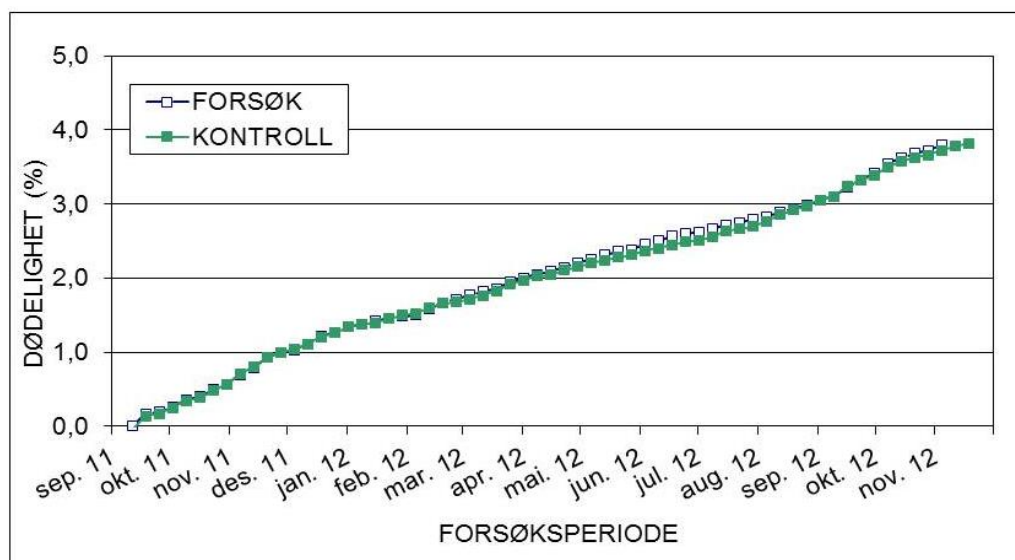
Det ble i prosjektperioden foretatt analyser av fôrene både mht. hovednæringsstoffer og fettsyreprofil (se tabell 5, avsnitt 4.3.1 for oversikt).

4 Resultater og Diskusjon

4.1 Produksjonsdata gjennom forsøksperioden (Basert på tilsendte uke rapporter)

4.1.1 Dødelighet

Utvikling i akkumulert dødelighet viser at ukentlig dødelighet var lav og stabil hos begge fôrgrupper gjennom hele forsøksperioden, og uten påviselige forskjeller inntil påbegynt slakt i november (Fig 10). Dette antyder at ulik innblanding av fôroljer i dette tilfellet ikke har vært utslagsgivende for overlevelse. Statistiske analyser basert på slaktedata (Tabell 3) viser heller ingen forskjeller mellom gruppene mht. dødelighet (Kontroll: 4,9% vs. Forsøk: 5,3%, $P=0,55$). Den generelt noe høyere dødeligheten for begge grupper basert på slaktedata skyldes at slaktingen foregikk fram til slutten av februar 2013, mens forsøksperioden ble avsluttet når man begynte slakt på første merd i november 2012.

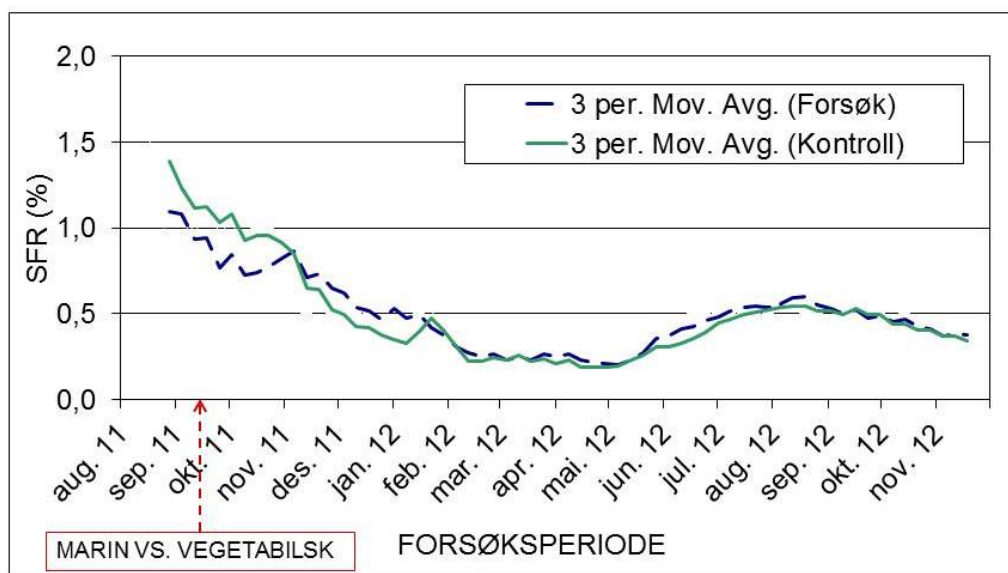


Figur 10 Akkumulert dødelighet i forsøksperioden

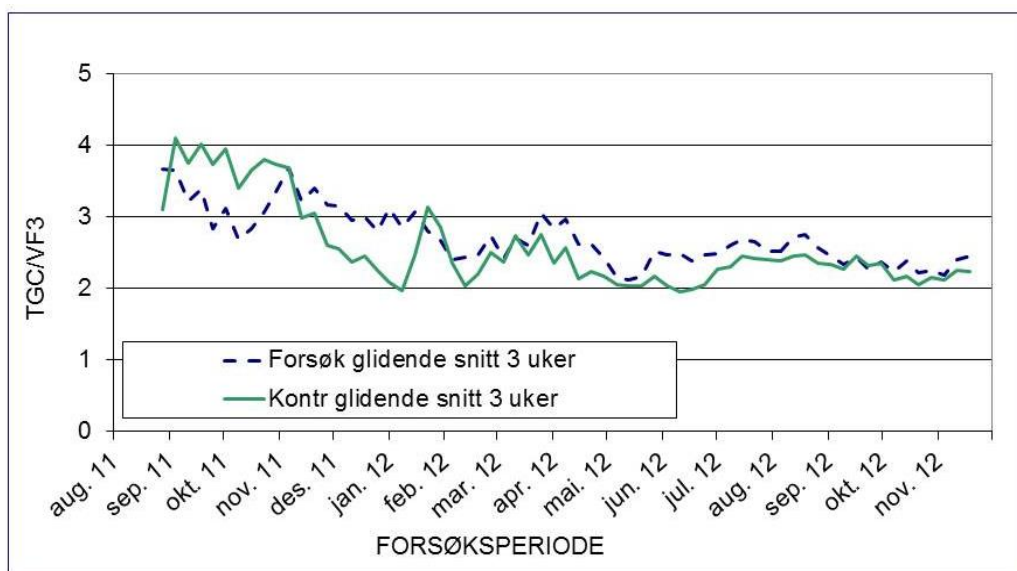
4.1.2 Fôrinntak, tilvekst og vektutvikling

Tilsendt ukentlige produksjonsdata gjennom forsøksperioden viste at regnbueørreten i forsøksmerkene hadde noe lavere appetitt i ukene etter splitting av merkene. Vi ser imidlertid av Figur 11 at lavere fôrinntak i forsøksmerkene startet før vi begynte med forsøksfôret. Det er derfor ingen grunn til å tro at nedsatt appetitt har noe med selve det marine forsøksfôret å gjøre (for eksempel smakelighet). Jfr. forsøksplanen ble tre opprinnelige merder på lokaliteten splittet i to, der regnbueørreten som ble igjen i den opprinnelige merden ble kontrollgruppa, mens ørret overført til ny merd ble forsøksgruppa. Siden redusert appetitt ble observert umiddelbart etter splitting kan dette skyldes stress påført forsøksfisken da det ble benyttet brønnbåt under splittingen og overføring til ny merd. Dersom dette er hovedforklaringen, viser tilsendte produksjonsdata fra lokaliteten at sorteringsstresset førte til redusert fôropptak i over to måneder og at tilveksten i denne perioden ble redusert tilsvarende (Fig 12). Våre beregninger viser at den reduserte appetitten kan ha ført til en tilvekstreduksjon på størrelsesorden ca. 100 gram (Fig 13).

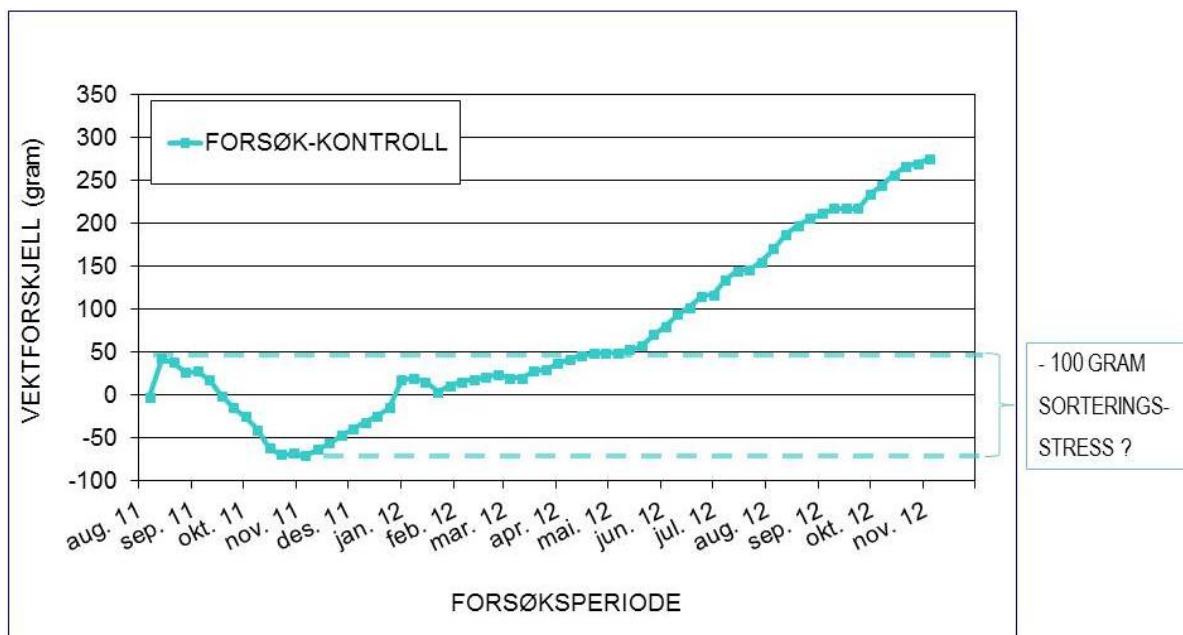
En oversikt fram til begynnelsen av november 2012 (inntil sulting på første av de seks merdene ble påbegynt) viser at tilvekst og vektøkning (Fig 12-14) er stabilt bedre for regnbueørret gitt forsøksfôr med høyt innhold av marine oljer sammenlignet med kontrollfôret (endring i oljesammensetning påbegynt medio september 2011, endring i protein/fett ratio påbegynt 4.september 2012). Det er grunn til å tro at tilvekstforskjellene mellom forsøks- og kontroll-gruppene hadde vært større dersom begge grupper hadde vært utsatt for samme behandling ved splitting av de opprinnelige merdene på lokaliteten.



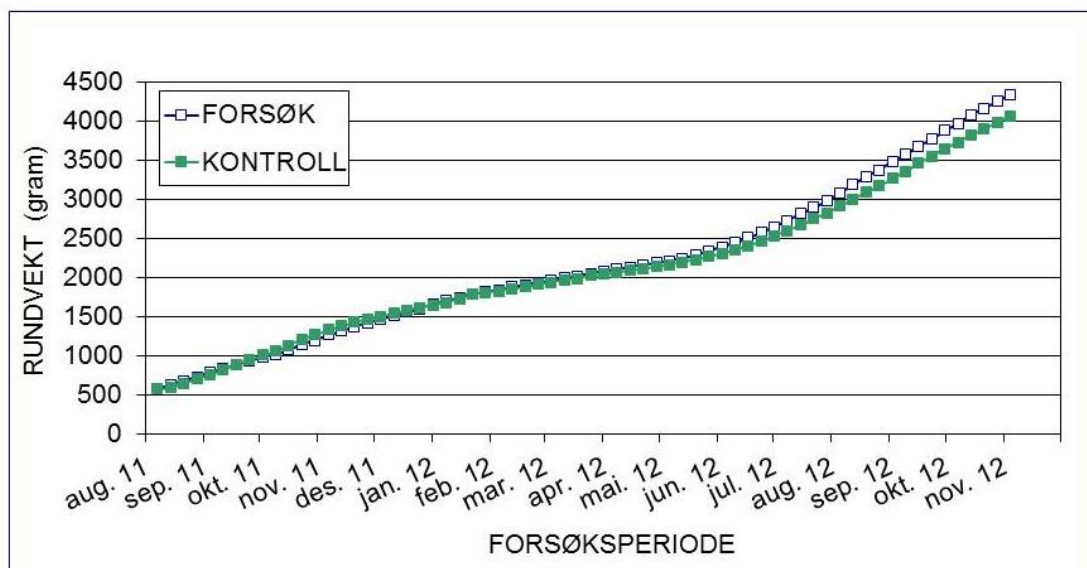
Figur 11 Relativt daglig fôrinntak (%) – SFR – i prosjektperioden. Data er presentert som et glidende snitt av tre uker



Figur 12 Tilvekst (TGC / VF 3) i prosjektperioden. Data er presentert som et glidende snitt av tre uker



Figur 13 Utvikling i estimert vektforskjell mellom fôrgrupper i prosjektperioden



Figur 14 Estimert vektutvikling i prosjektperioden

4.1.3 Oversikt produksjonsdata med statistikk

Siden vi benyttet et førsøksopplegg hos Grieg der hver av de opprinnelige nøtene på lokaliteten ble splittet i to har vi hovedsakelig benyttet parvise t-tester ved den statistiske bearbeiding av produksjonsdataene basert på slaktedata. Således er resultatene fra merd 5040 testet mot resultatene for merd 5041, merd 5050 mot 5051 og 5060 mot 5061 i en samlet test. Dette er mer korrekt enn å benytte en generell variansanalyse der alle merdene i utgangspunktet anses å være uavhengige.

Rundvekt ved slakt er signifikant høyere for regnbueørret gitt forsøksfôr sammenlignet med kontrollgruppa (Tabell 2). Vi legger merke til at begge grupper står oppført med tilnærmet identisk sum døgngader ($P=0.90$) i forsøksperioden slik at den observerte forskjellen i slaktevekt i utgangspunktet ikke kan bortforklares med ulike produksjonstid. Noe av vektforskjellene ved slakt kan forklares ved en trend ($P=0.08$) til høyere startvekt for regnbueørreten i forsøksgruppa, men når man justerer for dette er det fremdeles en signifikant høyere vektøkning hos regnbueørret gitt forsøksfôr med høy innblanding av marine oljer (+ 430 gram, $P=0.03$).

Det endelige beviset for bedre vekst hos forsøksgruppa får man normalt ved å beregne vekstfaktoren (TGC/VF3). Vekstfaktoren er utviklet nettopp for å korrigere for eventuelle ulikheter i fiskevekt og sum døgngader. Vekstfaktoren i seg selv sier altså ikke noe konkret om hvor stor en fisk blir, men bare hvordan den vokser relativt til størrelse og sjøtemperatur. Ved beregning av vekstfaktor og gjennomføringen av de statistiske beregningene oppdaget vi at kontrollmerd 5050 skilte seg ut mht. TGC, men også mht. FCR, i forhold til de to andre kontrollmerkene 5040 og 5060. Siden dette avviket langt overstiger krav til «uteligger» som er ≥ 4 SD fra gjennomsnittet i kontrollgruppa, er beregnet TGC og FCR for merd 5050 ikke representativ for kontrollgruppa. For at de resultatene vi produserer skal være mest mulig reproducerbare for Grieg/næringen har vi derfor valgt å utelate TGC og FCR fra merd 5050 i de statistiske beregningene. Siden dette prosjektet benyttet tre paralleller pr. fôrtype er det mulig å fjerne en «uteligger» og fortsatt gjennomføre statistiske analyser. Vi ser av Tabell 2 at, etter vår mening, en objektiv tolkning av produksjonsdata viser en statistisk sikker (2,74 vs. 2,50, $P=0,01$) bedre vekstfaktor (TGC) for regnbueørret gitt forsøksfôr med høy innblanding av marine oljer enn kontrollgruppa. I tillegg, en sterk indikasjon (1,31 vs. 1,41, $P=0,07$) på at også fôrutnyttelsen også har vært bedre for den marine fôrtypen.

Tabell 2 Oversikt over produksjonsdata basert på slaktedata

	KONTROLL			FORSØK			KONTROLL	FORSØK	FORSØK vs KONTROLL	STATISTIKK
	MERD 5040	MERD 5050	MERD 5060	MERD 5041	MERD 5051	MERD 5061	GJENNOMSNIITT	P-verdi		
ANTALL SEPTEMBER 2011	85685	90977	93158	81515	85510	60463	89940	75829	-14111	0,27
RUNDVEKT SEPT (Gram)	907	778	746	983	845	769	810	866	55	0,08
BIOMASSE SEPT (Kg)	77716	70780	69496	80129	72256	46496	72664	66294	-6370	0,52
FØRFORBRUK (Kg)	392473	422426	409662	382911	474921	317275	408187	391702	-16485	0,73
ANTALL SLAKTET	80723	87196	88771	77223	81739	56640	85563	71867	-13696	0,28
RUNDVEKT SLAKT (Gram)	4507	4835	4276	4905	5310	4859	4539	5025	485	0,01
BIOMASSE SLAKT (Kg)	363819	421593	379585	378779	434034	275214	388332	362676	-25656	0,58
VEKTØKNING (Gram)	3600	4057	3530	3922	4465	4090	3729	4159	430	0,03
BIOMASSEØKNING (Kg)	298778	358186	317559	308643	370552	236631	324841	305275	-19566	0,59
Sum DGR	2718	2759	2892	2586	2861	2892	2790	2780	-10	0,90
SFR (%)	0,40	0,38	0,38	0,40	0,40	0,41	0,39	0,40	0,02	0,20
SGR (%)	0,36	0,41	0,37	0,38	0,39	0,39	0,38	0,39	0,01	0,67
FCR biol	1,41	(1,24)	1,41	1,26	1,30	1,36	1,41	1,31	-0,10	0,07
FCR øko	1,48	(1,27)	1,46	1,31	1,34	1,42	1,47	1,36	-0,11	0,06
TGC (VF3)*	2,52	(2,80)	2,48	2,73	2,79	2,69	2,50	2,74	0,24	0,01
DØDELIGHET (%)	5,79	4,16	4,71	5,27	4,41	6,32	4,89	5,33	0,45	0,55

4.2 Kvalitetsegenskaper

Alle uttak av fisk til analyser til og med siste høst (21.august 2012) ble utført fra alle 6 merder (dvs. 3 forsøks- og 3 kontrollmerder). Det siste uttaket ble utført fra 4 representative merder (2 forsøk og 2 kontroll) (Tab 3).

Tabell 3 Oversikt over uttak av fisk for analyser. *Uttak nr. 1 representerer «nulluttaket» - dvs., uttak av fisk er foretatt innen endringer i førsammensetning er påbegynt

UTTAK NR	DATO	ANT. MERDER	SNITT RUNDVEKT (g) UTTAK	
			FORSØK	KONTROLL
1*	13. sep.11	6	723	871
2	24. jan.12	6	1804	1813
3	22. mai.12	6	2371	2499
4	21. aug.12	6	3478	3255
5	13. des.12	4	4350	4220

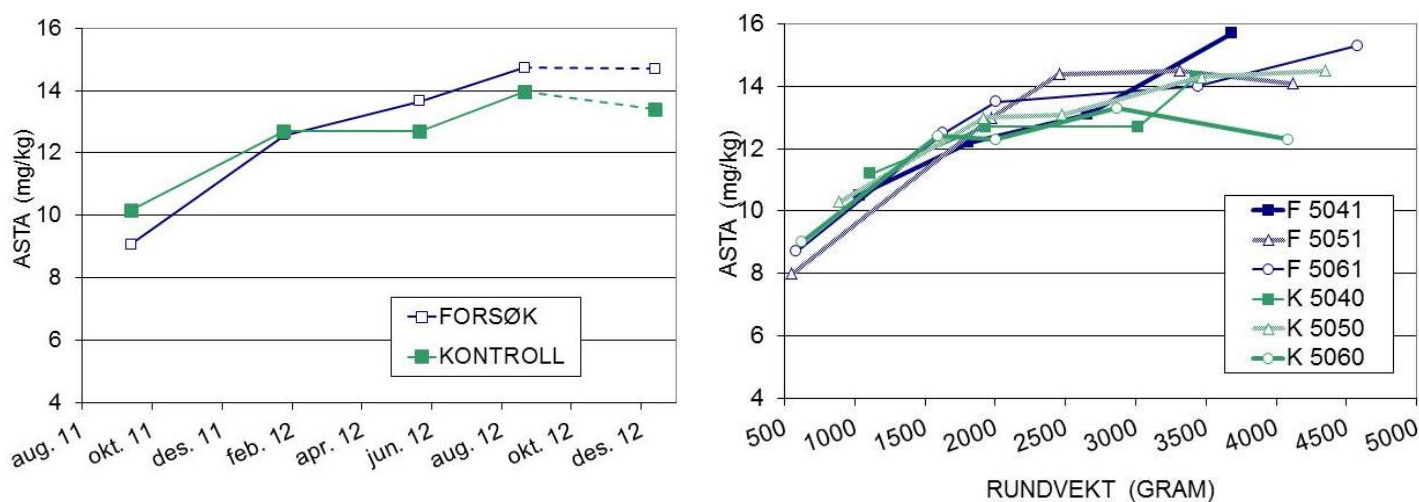
Figurene 15 – 20 representerer derfor gjennomsnitt av 3 (hel linje) henholdsvis 4 (stiplet linje) merder.

Til og med kvalitetsmåling utført 21.august 2012 har den eneste forskjellen mellom grupper vært ulikt innhold av EPA/DHA i fôret. Fra og med 4.september gikk forsøksfisken over på et noe magrere fôr med høyere andel protein, mens den samme forskjell i fettsyreprofil ble opprettholdt.

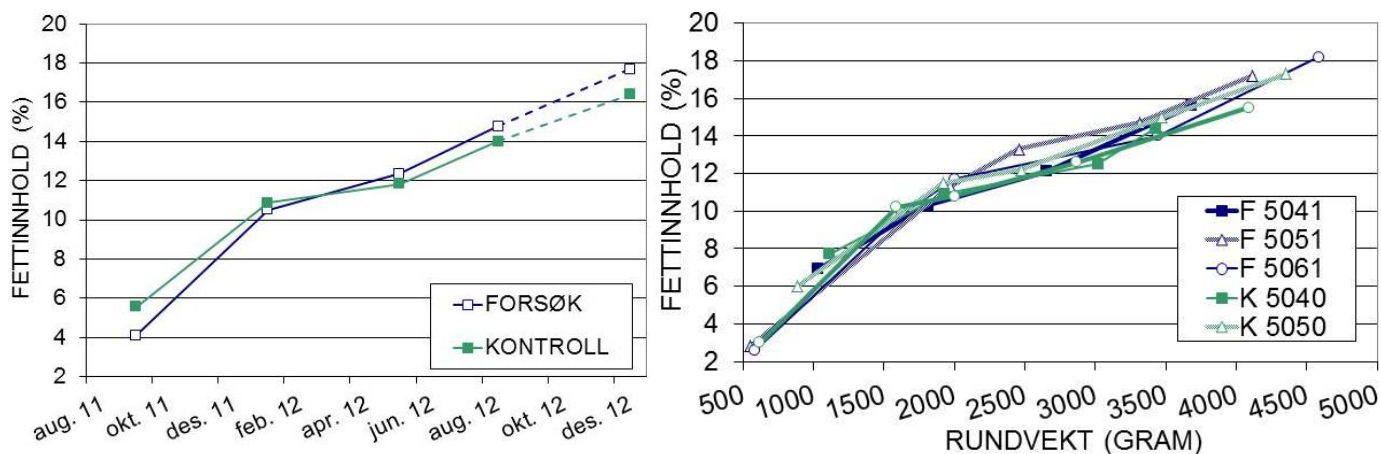
4.2.1 Endring i pigment og muskelfett

Øyensynlige forskjeller i Astaxanthin- og fett-nivå i muskel før prosjektoppstart (Fig 15 og 16) kan trolig forklares med forskjeller i snittvekt i selve uttaket (snittvekt i uttak fra forsøksgruppen var ca 150 gram/ 17 % lavere enn snittvekt i uttak tatt ut fra kontroll). Øvrige uttak viste en jevn økning i fargekvalitet og muskelfett uten statistiske forskjeller mellom grupper.

Ved siste uttak i desember 2012 var ørreten generelt sett av god kvalitet mtp farge og fett; analysene viste slank ørret (snitt muskelfett under 18 %) samt tilstrekkelig god fargekvalitet, men et pigmentnivå på litt over 12mg astaxanthin/kg i en av kontrollmerdene (5060) er vel nær nedre grense for hva man bør ha i regnbueørret (Fig 15). Trenden som viser både høyere farge og fett i muskel i gruppen som har gått på en marin profil er imidlertid ikke signifikant (Tab 4). Årsaken til dette er hovedsakelig ikke at forskjellene i gjennomsnittverdier er små, men mer at det er for stor variasjon mellom merder innen samme fôrtype.



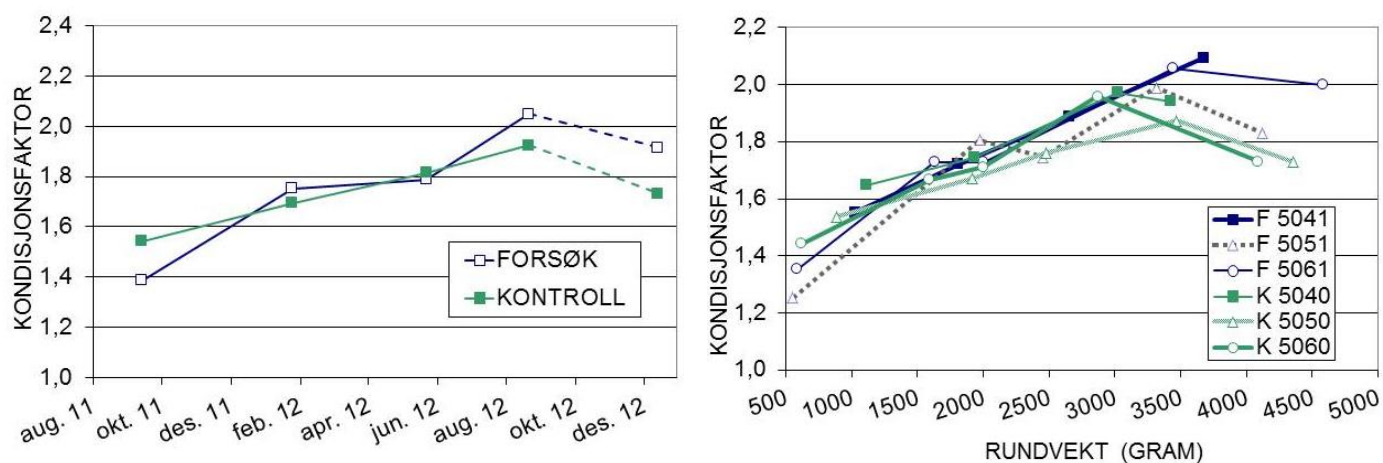
Figur 15 Målt endring i muskelpigment over tid (venstre) og i forhold til rundvekt (høyre)



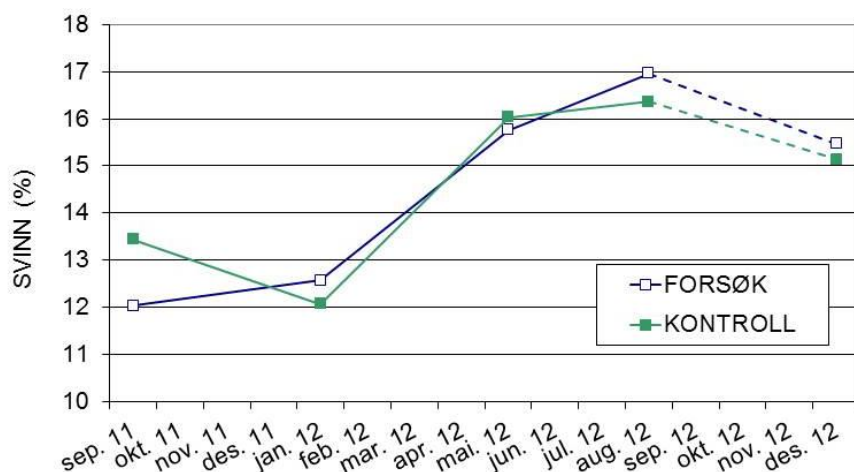
Figur 16 Målt endring i muskelfett over tid (venstre) og i forhold til rundvekt (høyre)

4.2.2 Endring i kondisjonsfaktor og sløyesvinn

Kondisjonsfaktor og sløyesvinn viste en sammenfallende økning i uttaket utført andre høst i sjø (21.august) i forsøksgruppa med marin profil. Fra uttaket i slutten av august og til uttaket i midten av desember (13.desember) var det en klar nedgang i både KF og sløyesvinn i begge grupper som trolig kan tillegges en nedgang i innvolls fett (fettreserver). Trenden i forskjeller mellom grupper i sløyesvinn og KF var ikke signifikante (Tab 4).



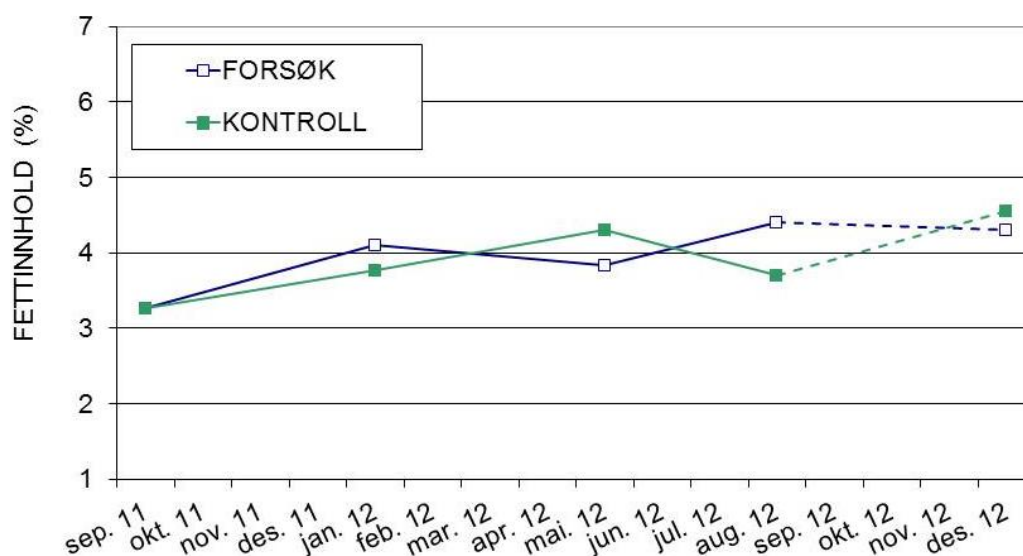
Figur 17 Målt endring i kroppsform over tid (venstre) og i forhold til rundvekt (høyre)



Figur 18 Målt endring i sløyesvinn i prosjektperioden

4.2.3 Endring i totalfett i hjerte

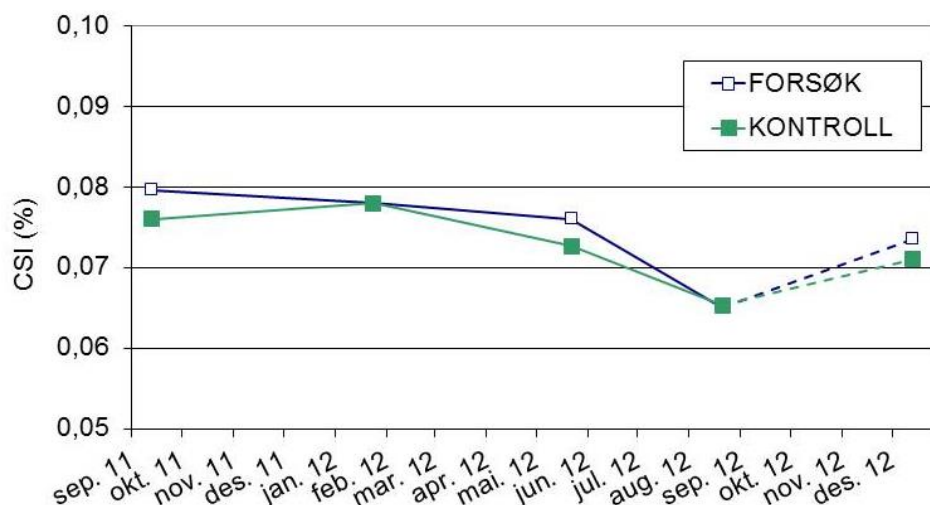
Analyser av totalfett i hjertet viste ingen forskjeller mellom grupper. Generelt sett var det en liten økning i fettinnhold i hjerte med økende fiskestørrelse, men ikke nevneverdig sammenlignet med økningen i muskelfett som er vanlig med økende fiskestørrelse. På så måte kan det framstå som fettinnhold i hjertet hos ørret varierer uavhengig av muskelfett, og at akkumulering av fett reguleres/stabiliseres når et fettinnhold på 4-4.5 % er oppnådd. Det samme fettnivå ble observert i 2010 (Fig 1B.)



Figur 19 Målt endring i totalfett i hjerte

4.2.4 Endring i CSI

Registreringer av utvikling i CSI over tid viste en liten nedgang med økende fiskestørrelse, hvilket er «normalen» (Fig 20) Den markerte nedgangen i slutten av august/andre høst i sjø sammenfaller med høyest registrerte kondisjonsfaktor (Fig 17) og sløyevinn (Fig 18) i prosjektperioden. Dette antyder at det trolig ikke er en faktisk nedgang i hjertevekt, men snarere at økt overskuddsfett rundt innvoller ledet til en høyere kroppsvekt relativt til hjertet.



Figur 20 Målt endring i kardiosomatisk index (CSI) i prosjektperioden

4.2.5 Fettnivå i lever

Det ble funnet likt fettinnhold (8.2%) i leveren hos de to fôringsgruppene ved avslutning av forsøket i desember 2012. Det ble således ikke funnet antydning til høyere fettdeponering i leveren til regnbueørreten som hadde fått kontrollfôr med 70% innblanding av raps olje sammenliknet med regnbueørret gitt forsøksfôr med 70% innblanding av marin olje. Dette selv om kontrollgruppa i tillegg i siste del av forsøksperioden (fra september 2012) hadde et høyere fettinnhold i fôret enn forsøksgruppa (36,5 % vs. 32,8 %; tabell 4).

Dette er innledningsvis ikke sammenfallende med hva Nofima tidligere har funnet for laks (se avsnitt 1.2). I et forsøk der effekten av sjøtemperatur og innblanding av soyaolje i fôr til laks viste Ruyter m. flere (2006) at laks ved 5 °C, og som hadde fått 100 % soyaolje (SO) i fôret, hadde signifikant høyere fettinnhold i leveren enn laks som hadde fått 100 % fiskeolje (FO) eller 50 % SO. Ingen slik effekt ble påvist ved en sjøtemperatur på 12 °C (Fig. 5). Flere studier har vist økt fettinnhold i lever til laks når fiskeolje erstattes med høye nivå av rapsolje fôret (Liland m. flere 2013, Mørkøre m. flere., 2013). En studie med ørret har i motsetning til studiene med laks, vist at høye nivå av planteoljer ikke påvirker opptak, transport og syntese av fett i lever til ørret (Richard m. flere 2006). En studie av Polakof m. flere (2011) har videre vist at karbohydrat i fôr og insulinnivå i blod påvirker fettsyntese i lever til ørret. Forskjeller mellom laks og ørret når det gjelder hvordan høye nivå av rapsolje i fôr påvirker fettdeponering i lever, kan skyldes eventuelle artsforskjeller og andre miljøfaktorer. En mulig årsak til at vi ikke fant økt fettakkumulering i leveren i vårt forsøk med regnbueørret kan være at sjøtemperaturen på 6 °C ved sluttuttaket ikke var lav nok. Imidlertid når vi ser på sjøtemperaturen gjennom hele forsøket (Fig. 9) så sees at sjøtemperaturen aldri har vært over 9 °C på lokaliteten i Nord. I tillegg var sjøtemperaturen vinteren 2012 3-4 °C i hele perioden februar-april. Det kan derfor virke litt rart at det lave temperaturregimet i Nord ikke skulle fremprovosere fettakkumulering i indre organer hos regnbueørreten dersom innblandingen av vegetabilsk olje i fôret hadde vært høy nok. En årsak til at vi ikke fant økt fettnivå i leveren hos kontrollgruppa kan derfor være at 70 % innblanding av rapsolje ikke er nok til å fremprovosere den forventede økning i fettakkumulering. De samme fôrene som ble benyttet i vårt forsøk med regnbueørret i Nord ble også benyttet i et FHF-prosjekt på laks (FHF #900653, Mørkøre m. flere 2013) på Nofimas forsøksanlegg på Møre. I dette prosjektet ble de to fôrene benyttet i perioden august 2011 til mars 2012. Gjennomsnittlig sjøtemperatur var 8,8 °C i hele forsøksperioden. Ved sluttuttaket i mars, ved 6 °C, ble det funnet ca dobbelt så høyt fettnivå i lever til laks gitt 70 % rapsolje sammenliknet med i laks gitt 70% marin olje (ca 10 % vs 5 % fett i leveren).

Man kan ikke konkludere utfra de sammenlikningene som er beskrevet over, men det er grunn til å undersøke nærmere om lave sjøtemperaturer, i kombinasjon med høyt nivå av vegetabilsk oljer i fôret, ikke har samme negative effekt på fettakkumulering i indre organer hos regnbueørret som vist for laks.

4.2.6 Oversikt kvalitetsdata med statistikk

Tabell 4 Oversikt over kvalitetsdata basert på sluttuttak fra merd (fire merder)

	KONTROLL		FORSØK		KONTROLL	FORSØK	FORSØK vs KONTROLL	STATISTIKK
	MERD 5050	MERD 5060	MERD 5051	MERD 5061	GJENNOMSNIITT			P-verdi
RUNDVEKT (Gram)	4351	4088	4116	4583	4220	4350	130	0,78
KONDISJONSFAKTOR	1,75	1,73	1,85	1,99	1,74	1,92	0,18	0,29
FETT I MUSKEL (%)	17,3	15,5	17,2	18,2	16,4	17,7	1,3	0,52
ASTAXANTHIN (mg/kg)	14,5	12,3	14,1	15,3	13,4	14,7	1,3	0,60
SLAKTEUTBYTTE (%)	83,2	86,5	84,9	84,2	84,9	84,6	-0,3	0,9
BUKVEGGTYKK (mm)	16,9	16,3	17,4	16,1	16,6	16,8	0,1	0,5
HJERTE; CSI	0,068	0,074	0,075	0,072	0,071	0,074	0,002	0,75
LEVER; HSI	0,98	0,97	1,02	1,06	0,98	1,04	0,07	0,20

4.3 Fettsyreprofil; EPA/DHA i fôr og vev

4.3.1 Analyserte verdier av EPA/DHA i fôr

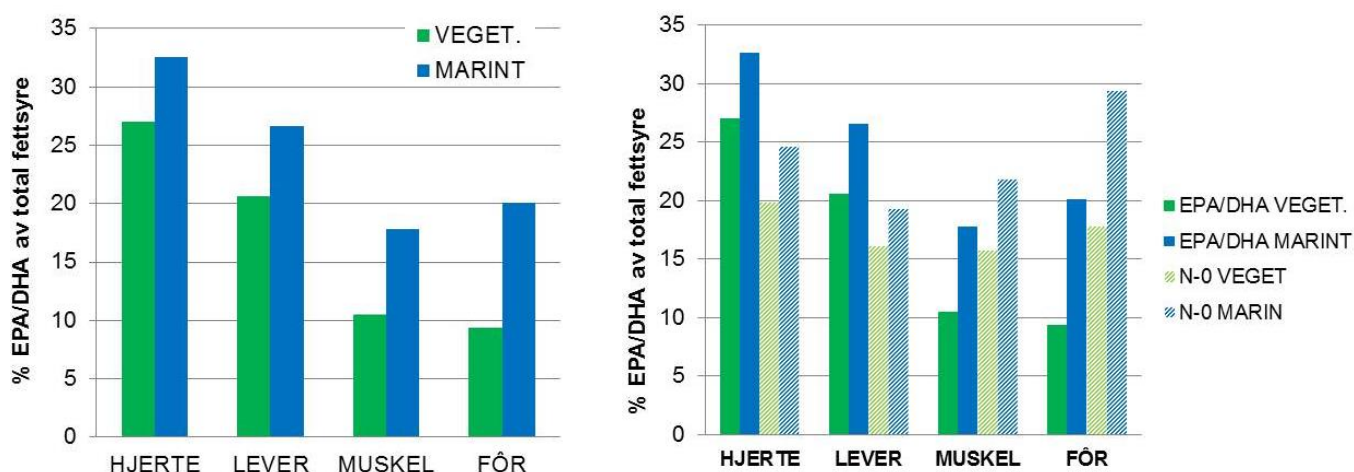
Tabell 5 Oversikt over analyserte verdier av hovednæringsstoffer samt EPA/DHA i fôr

UTFØRING	ANALYSEDATO	PELLETSTR	FØRTYPE	PROTEIN (%)	FETT (%)	EPA/DHA % olje	EPA/DHA % fôr
SEP 2011	17.11.2011	7mm	KONTROLL (A)	42	31,7	7,9	2,5
	17.11.2011	7mm	FORSØK (B)	42,3	31,9	17,6	5,6
	07.02.2012	7mm	KONTROLL (A)	41,8	31,1	7,9	2,5
	07.02.2012	7mm	FORSØK (B)	41,7	31	17,6	5,5
-	07.02.2012	9mm	KONTROLL (A)	34,6	35,7	8,8	3,1
SEP 2012	07.02.2012	9mm	FORSØK (B)	34,4	37	18,8	7,0
SEP 2012 - NOV 2012	31.05.2012	9mm	KONTROLL (A)	33,8	37,5	8,4	3,2
	31.05.2012	9mm	FORSØK (B)	33,5	36,7	16,8	6,2
	29.11.2012	9mm	KONTROLL (A)	35,1	36,5	9,4	3,4
	29.11.2012	9mm	FORSØK (B)	37,3	32,8	20,1	6,6

4.3.2 Andel EPA/DHA av fettsyrer i fôr og vev i sluttuttak

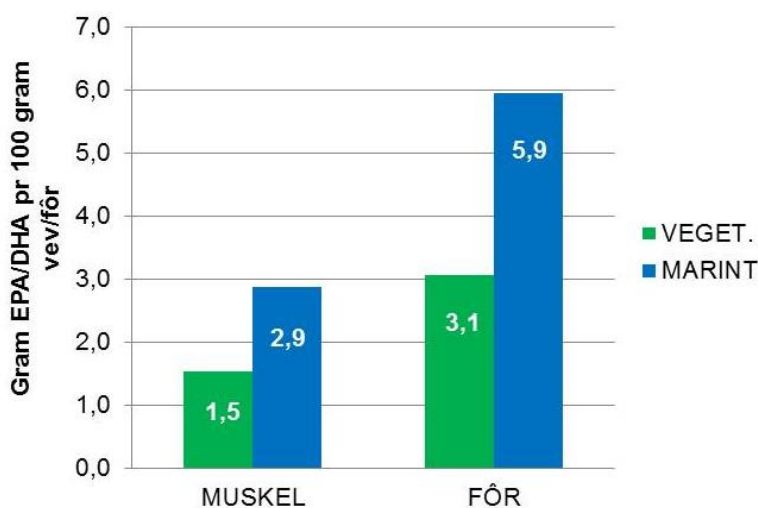
Som forventet viste analyser av fettsyreprofilen i muskelen at andel EPA/DHA hadde stor likhet med fettsyreprofilen av EPA/DHA i fôret (Fig. 21). Imidlertid, når det gjelder lever og hjerte sees av Figur 21 at andel EPA/DHA øker utover fôrnivå både for kontroll og forsøksgruppene, mest i hjertet. Vi legger videre merke til at den relative økning er størst for kontrollgruppa med lavest innhold av EPA/DHA i fôret. Hos denne gruppa var EPA/DHA-andelen i leveren litt over dobbelt av nivået i kontrollfôret, mens i hjertet var denne andelen økt ytterligere til tre ganger nivået i kontrollfôret. Vi fant også at vitale indre organer hos regnbueørreten akkumulerer en stor andel EPA/DHA fra fôret og relativt mest hos de som får minst tilgang til disse vitale fettsyrer gjennom fôret.

Videre viste analysene av fettsyreprofil at det i fôr og muskel var mer mettet fett enn EPA/DHA, samtidig som det i hjerte og lever ble akkumulert mindre mettet fett enn EPA/DHA.



Figur 21 Andel EPA/DHA av fettsyrer i vev/fôr (venstre) for forsøksgruppe med marin profil sammenlignet med kontrollgruppe med vegetabilsk profil. Høyre graf viser samme fettsyreprofil inkludert mettede fettsyrer (N-0)

Ved å beregne gram EPA/DHA pr. 100 gram muskel (Fig. 22) sees at fettsyreprofilen gjenspeilet helt tydelig den ulike sammensetningen av fôrloljer mellom fôrene/gruppene og var i henhold til planen: Forsøksgruppen hadde ca. dobbelt så mye EPA/DHA som kontrollgruppen i fôret hvilket er omtrent det samme forholdet som vi fant igjen i filet.



Figur 22 Andel EPA/DHA vist som gram per 100 gram fôr og vev

4.3.3 Oversikt fettsyreprofil med statistikk

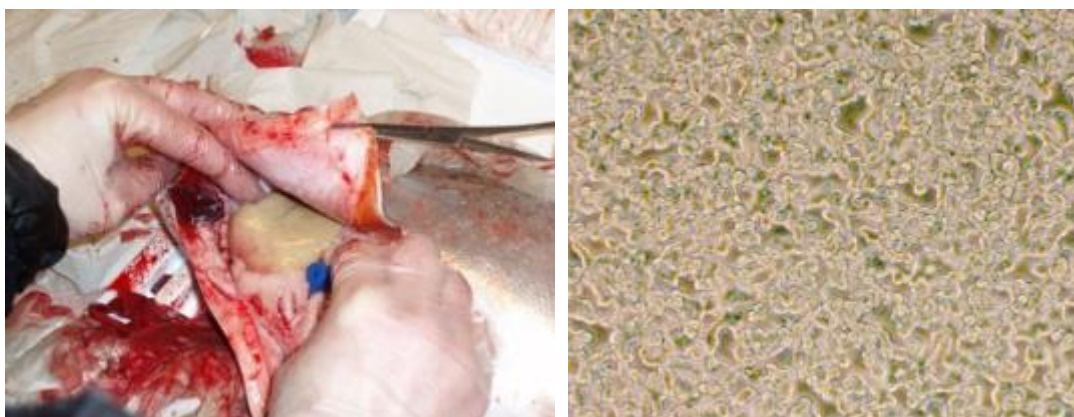
Tabell 6 Oversikt over fettsyreprofil i vev basert på sluttuttak (4 merder)

	KONTROLL		FORSØK		KONTROLL	FORSØK	FORSØK vs	STATISTIKK
	MERD 5050	MERD 5060	MERD 5051	MERD 5061	GJENNOMSNIITT		KONTROLL	P-verdi
EPA/DHA HJERTE	26,10	27,90	32,60	32,50	27,00	32,55	5,55	0,025
EPA/DHA LEVER	21,00	20,20	26,50	26,80	20,60	26,65	6,05	0,005
EPA/DHA MUSKEL	1,66	1,44	2,78	3,00	1,55	2,89	1,34	0,013
N-0 HJERTE	20,00	19,90	24,50	24,70	19,95	24,60	4,65	0,001
N-0 LEVER	16,10	16,10	19,20	19,40	16,10	19,30	3,20	0,001
N-0 MUSKEL	2,47	2,20	3,36	3,58	2,34	3,47	1,14	0,023

4.4 *In vitro* studier av cellefunksjon og studier av genuttrykk i hjerte og lever

4.4.1 Analyse av lipidmetabolisme i leverceller fra ørret

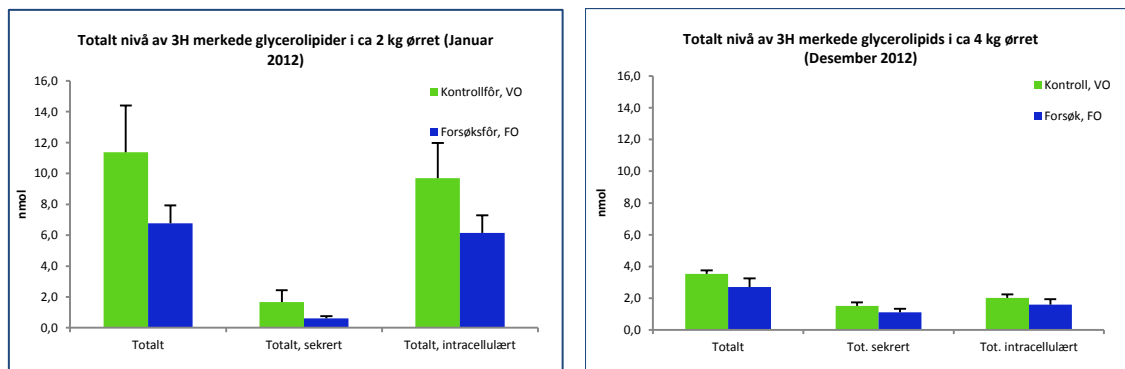
Tidligere er det vist at vegetabilsk olje stimulerer syntese og sekresjon av triacylglycerider (TAG) fra lever, mens fiskeolje hemmer, både i fisk og menneske. For å undersøke eventuelle effekter av ulike føroljer ved kalde sjøtemperaturer på fettomsetning i ørret ble fettsyntese og utskillelse av fett (lipidsekresjon) fra leverceller studert ved to ulike tidspunkter; januar 2012 og desember 2012.



Figur 23 Isolering av leverceller (venstre) og mikroskopibilde av dyrkede leverceller (høyre)

Resultater fra begge prøveuttak tyder på at leverceller fra forsøksgruppen, med høyt nivå av EPA og DHA, har tendens til lavere nivå av fettsyntese (lavere intracellulært nivå av radioaktivt glyseromerkede lipider) og redusert sekresjon (utskillelse) av glyserolipider til dyrkingsmediet sammenlignet med kontrollgruppen med lavt nivå av disse marine fettsyrene (Fig 24). Dette antyder at leveren i gruppen som har gått på en marin profil har en høyere fettforbrenningskapasitet grunnet høyere innslag av EPA i føret.

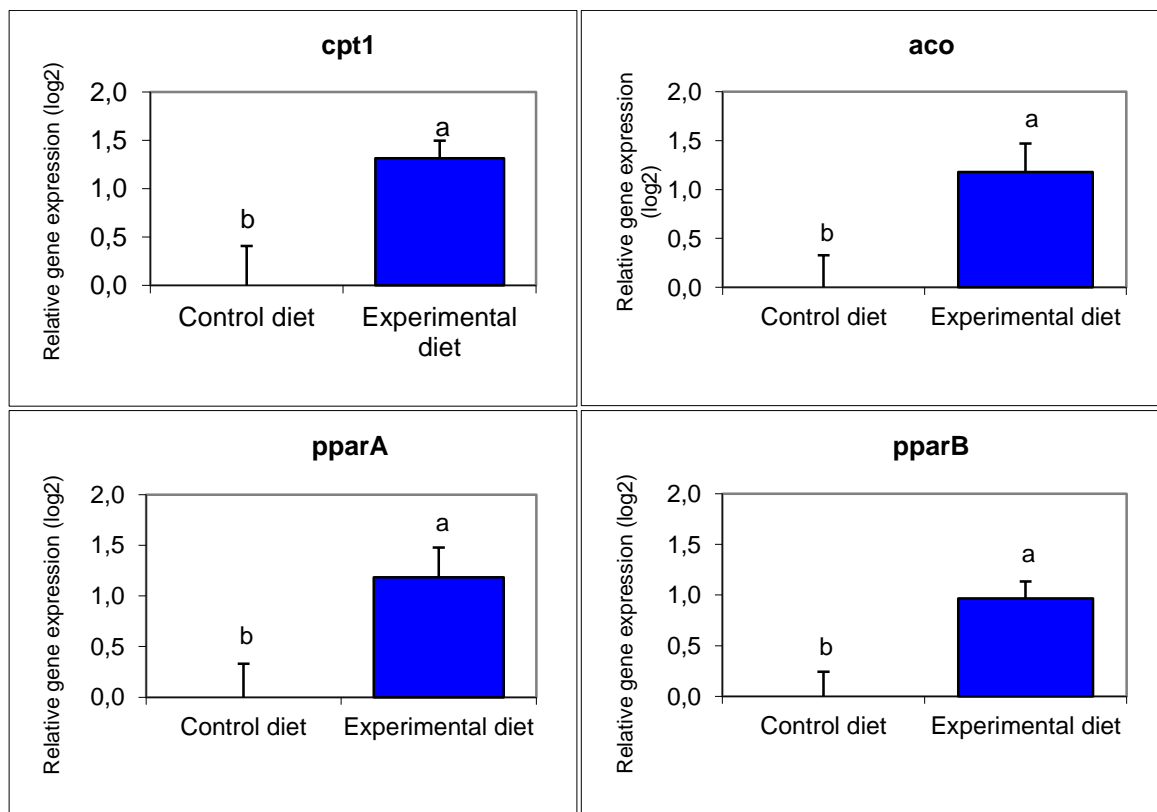
Disse resultatene er i overensstemmelse med tidligere resultater fra atlantisk laks, hvor sekresjonen av glyserolipider fra levercellene var lavere hos laks føret med dietter anriket med EPA og DHA, sammenlignet med rapsolje diett (Kjær m. flere, 2008, Vegusdal m. flere 2005).



Figur 24 Syntese (intracellulært) og utskillelse (sekret) av lipider (fett) i leverceller isolert fra 2 og 4 kg ørret hhv. januar 2012 og desember 2012

Figur 24 tyder på en relativt høyere kapasitet for fettsyntese i leverceller til 2 kg ørret (2 nmol) sammenlignet med 4 kg ørret (6-8 nmol), samtidig som sekresjonen av lipider var relativt lik ved de to tidspunktene. Det er ikke klart hva som forårsaker forskjellene i fettsyntese ved de to størrelsene av ørret, men ser man dette i sammenheng med funnene fra hjerteceller i figur 27, ser man at fettforbrenningen i hjertet er høyere i 4 kg ørret enn i 2 kg ørret. Dersom fettforbrenningen er tilsvarende høyere i lever, så vil det kunne forklare lavere nivå av radioaktivt syntetisert lipid i denne gruppen pga at mer lipid går til forbrenning.

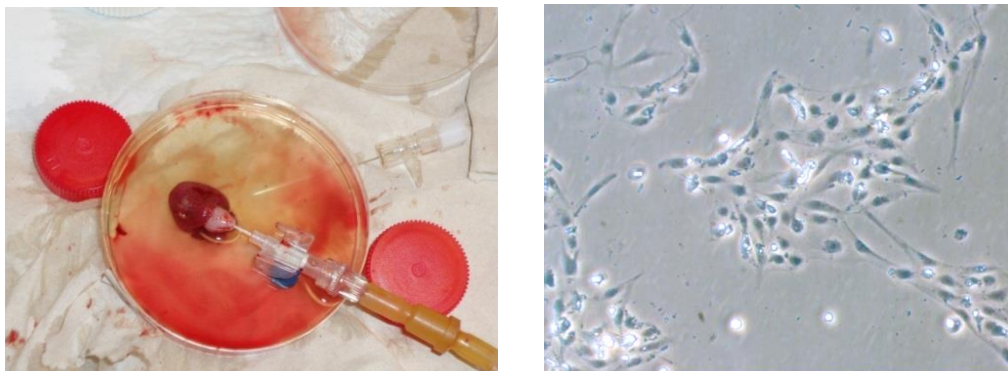
Levercellene ble også analysert for uttrykk av gener involvert i fettforbrenning, og resultater fra januar 2012 viser signifikant økt nivå av disse (cpt1, aco, pparA og pparB) i forsøksgruppen (Fig 25).



Figur 25 Uttrykk av gener involvert i fettforbrenning i leverceller (aco, cpt1, pparA og pparB)

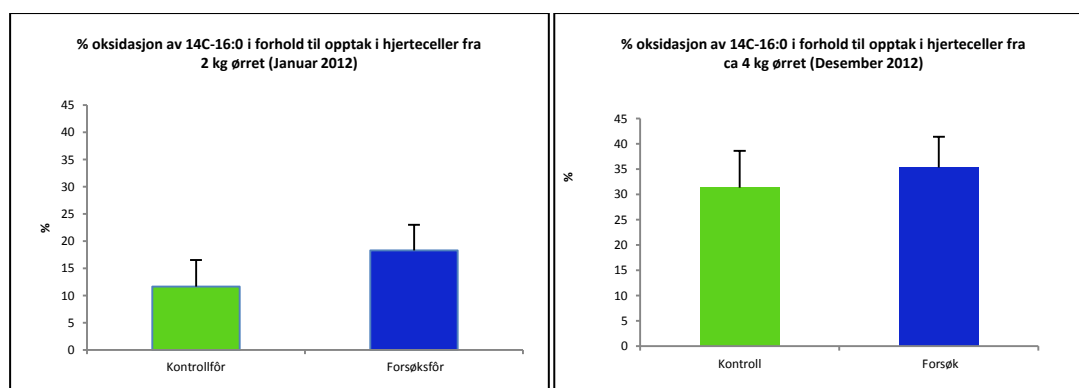
4.4.2 Analyse av lipidmetabolisme i hjerteceller fra ørret

I atlantisk laks er det tidligere vist at EPA og DHA kan stimulere fettforbrenningskapasiteten i leverceller (Kjær m. flere, 2008). I denne studien ønsket vi derfor å teste ut hvorvidt en diett med enten høyt eller lavt innhold av EPA/DHA ville påvirke fettforbrenningskapasiteten også i hjerteceller fra regnbueørret.



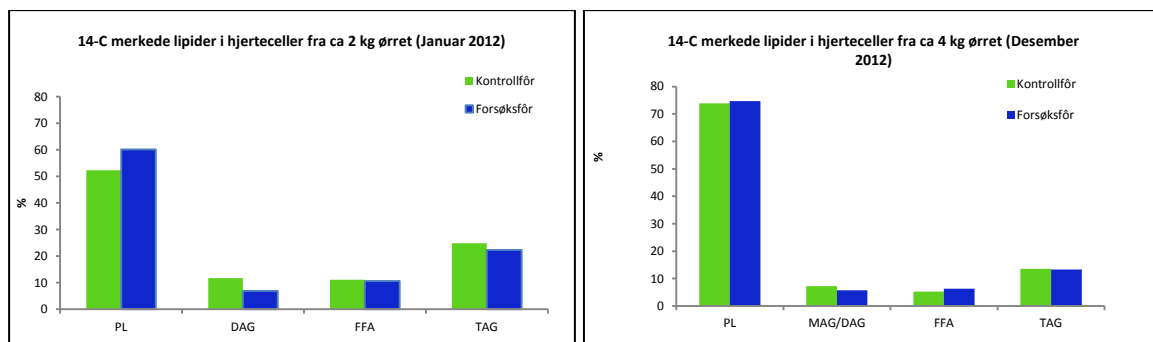
Figur 26 Isolering av hjerte celler og dyrking av hjerte celler

Resultater fra analyser av hjertecellemetabolisme tyder også på økt fettforbrenning i forsøksgruppen med høyt omega-3 nivå sammenlignet med kontrollgruppen med lavt omega-3 nivå. Hjerteceller fra både januar 2012 og desember 2012 viser tendens til økt fettforbrenning (Fig 27). Samtidig ser man en tendens til økt fettforbrenning i 4 kg ørret sammenlignet med 2 kg.



Figur 27 Oksidasjon av 14C-16:0 i forhold til opptak i hjerteceller isolert fra 2 og 4 kg ørret hhv. januar 2012 og desember 2012

Forestring av 14-C 16:0 i ulike komplekse lipider viser liknende mønster i kontrollgruppen og forsøksgruppen ved januar 2012 og desember 2012 (Fig 28). Palmitinsyre blir hovedsakelig inkorporert i fosfolipider (50-70 %) og triglyserider (10-20 %) ved begge uttak.



Figur 28 14-C merkede lipider i hjerteceller isolert fra 2 og 4 kg ørret hhv. januar 2012 og desember 2012

4.4.3 Konklusjon cellekulturer

Da det ble observert lav dødelighet innledningsvis i forsøket ble det bestemt at det siste uttaket også skulle utføres ved lavest mulig sjøtemperatur og på størst mulig fiskevekt for å etterprøve den økte dødeligheten i denne perioden for det innledende prosjektet i 2011.

Oppsummert ser det ut til at forsøksgruppen med høy andel fiskeolje i fôret har antydning til redusert syntese og sekresjon av lipider i lever, ved begge prøvetidspunkter. I tillegg viser resultatene antydning til økt fettforbrenning i lever (genuttrykk) og hjerte. For øvrig ser det ut til at fisk på 2 kg prioriterer å benytte mer fett til lagring i triglyserid og mindre til forbrenning enn i fisk ved 4 kg hvor man ser en høyere fettforbrenning og lavere fettsyntese.

5 Oppsummering og konklusjoner

Til tross for stor forskjell i EPA/DHA-nivå i de to fôrene som ble benyttet i dette prosjektet ble det ikke observert forskjeller i dødelighet hos regnbueørreten i Finnmark. Dette selv om forskjellene mellom EPA/DHA-nivå mellom grupper var større i dette forsøket enn i 2010 (Tab 1 og Tab 5). En årsak kan være at dødeligheten var meget lav. Akkumulert dødelighet gjennom hele forsøksperioden var mindre enn 4 % hos begge grupper (Fig 10). Selv ikke på vinteren med sjøtemperaturer ned mot 3°C (Fig 9) var det antydning til økt dødelighet hos kontrollgruppen som hadde fått fôr med 70 % innblanding av rapsolje, og dermed lave omega-3 nivåer.

Når det gjelder de omfattende cellostudiene av lever og hjerte så ble disse utført i to perioder ved lave og fallende sjøtemperaturer (januar og desember 2012). Det ble ikke påvist statistisk sikre forskjeller mellom fôrgruppene mht. syntese og utskillelse av lipider (fett) i leveren, eller fettforbrenning i hjerte på cellenivå. Den eneste signifikante observasjonen som ble registrert var økt fettforbrenning i leveren hos regnbueørret gitt 70 % innblanding av høy omega-3 marin olje, målt som økt genuttrykk, første vinter i sjø (januar 2012).

For øvrig antydte resultatene fra cellostudiene at fisk på 2 kg (januar 2012) prioriterer å benytte mer fett til lagring i triglyserid og mindre til forbrenning enn i fisk ved 4 kg (desember 2012) hvor man ser en høyere fettforbrenning og lavere fettsyntese. Dette kommer også overens med den observerte nedgangen i kondisjonsfaktor og sløyesvinn siste vinter i sjø (Fig 17 og 18).

Selv om cellostudiene ikke klarte å påvise statistisk sikre forskjeller mellom fôrgruppene var det i begge de analyserte vinterperiodene med lave sjøtemperaturer en trend til positiv effekt av høy innblanding av EPA/DHA i fôret på alle analyserte parametere relatert til kjente mekanismer knyttet opp mot en hjertelidelse som arteriosklerose. En mulig forklaring på at vi observerer kun positive *trender* og ikke *statistisk sikre responser* på det marine forsøksfôret når det gjelder regnbueørret kan til en viss grad forklares gjennom de utførte analysene av fettsyreprofilen til EPA/DHA i fôr, muskel, lever og hjerte (Fig 21). Som forventet viste analyser av fettsyreprofilen i muskelen at andel EPA/DHA hadde stor likhet med fettsyreprofilen av EPA/DHA i fôret. Imidlertid, når det gjaldt lever og hjerte økte andel EPA/DHA utover nivåene i fôret både for kontroll og forsøksgruppene, og mest i hjertet. Den relative økning var størst for kontrollgruppa med lavest innhold av EPA/DHA i fôret. Som omtalt i resultatavsnittet var EPA/DHA-andelen i leveren litt over dobbelt av nivået i kontrollfôret, mens i hjertet var denne andelen økt ytterligere til tre ganger nivået i kontrollfôret. Vi legger altså merke til at vitale indre organer hos regnbueørreten har økt evne til å akkumulere EPA/DHA fra fôret ved lave andeler av disse fettsyrene i fôret. I tillegg viste analysene av fettsyreprofil at det i fôr og muskel var mer mettet fett enn EPA/DHA, samtidig som det i hjerte og lever ble akkumulert mindre mettet fett enn EPA/DHA. Årsaken til positive trender men manglende statistisk sikre effekter hos ørret, som Nofima tidligere har dokumentert i cellokulturer fra laks, kan derfor være at for at celloveggene i vitale indre organer skal kunne opprettholde sin funksjonalitet (spesielt ved lave sjøtemperaturer) har regnbueørreten evne til økt opptak og akkumulering av EPA/DHA i fosfolipidfraksjonen i cellemembranene. Videre, at 30 % innblanding av marine oljer denne gangen var tilstrekkelig for å opprettholde funksjonaliteten av hjertet og hindre økt dødelighet pga arteriosklerose. En viktig observasjon i denne sammenhengen er også at analyser av totalfett i lever i sluttuttaket siste vinter i sjø ikke viste forskjeller i fettdeponering i leveren mellom fôrgrupper. Dette er i motsetning til tidligere funn hos Atlantisk laks, der økt innblanding av vegetabiliske fôroljer har blitt satt i

sammenheng med økt fettutskillelse fra lever, og dermed økt fett i blodbanen som igjen kan lede til hjerte-/karsykdommer.

Oppsummert antyder dette mulige forskjeller mellom laks og ørret når det gjelder hvordan høye nivå av rapsolje i fôr påvirker fettdeponering i lever og at regnbueørret tolererer høyere innblanding av vegetabiliske fôroljer, hvilket kan være avgjørende kunnskap i oppdrettssammenheng.

Samtidig viser dette behovet for oppfølgende (dose-respons)studier som kan dokumentere hvor eventuelt nedre grense mht. disse vitale fettsyrene i fôret går.

Til tross for at det ikke ble påvist forskjeller i dødelighet, ble det påvist en signifikant bedre tilvekst for regnbueørret gitt forsøksfôr med økt innhold av EPA/DHA (Tabell 3). I tillegg hadde forsøksgruppa en klar trend ($P=0,06/0,07$) til både bedre biologisk og økonomisk fôrfaktor enn kontrollgruppa. Siden begge gruppene hadde tilnærmet samme fôrinntak (SFR), må det bety at fôrdøyeligheten har vært noe bedre for det marine forsøksfôret med høyt innhold av omega-3 og/eller at mer av energiforbruket er blitt benyttet til vekst. Siden tilsetning av økt rapsolje reduserer smeltepunktet i fôret og som kan være en fordel spesielt ved lave vintertemperaturer er det liten grunn til å tro at økt EPA/DHA har vært fordelaktig mht fordøyelighet av fett i fôret. Vi har ingen god forklaring på forskjellen i tilvekst mellom gruppene annet enn at selv om et høyt nivå av marine oljer ikke reduserte dødeligheten så kan det ha hatt en mulig helsegevinst som har gitt positivt utslag på økt tilvekst.

6 Referanser

- Alne, H., Thomassen, M.S., Sigholt, T. Berge, R.K. and Rørvik, K-A., 2009. Reduced sexual maturation in male post-smolt 1+ Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) by dietary tetradecylthioacetic acid. *Aquaculture Research*, 40: 533-541
- Ferguson HW, Poppe T, Speare DJ (1990) Cardiomyopathy in farmed Norwegian salmon. *Dis Aquat Org* 8:225–231
- Kjær et al. 2008 Effect of rapeseed oil and dietary n-3 fatty acids on triacylglycerol synthesis and secretion in Atlantic salmon hepatocytes. *Biochemica et Biophysica Acta* 1781: 112-122.
- Kongtorp RT, Halse M, Taksdal T, Falk K. 2006. Longitudinal study of a natural outbreak of heart and skeletal muscle inflammation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L *J Fish Dis.* Apr;29(4):233-44.
- Liland NS, Espe M, Rosenlund G, Waagbø R, Hjelle JI, Lie O, Fontanillas R, Torstensen BE (2013) High levels of dietary phytosterols affect lipid metabolism and increase liver and plasma TAG in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Br J Nutr.* 2013 Apr 30:1-10.
- Lillehaug, A. & Skrudland, A. (2006). Nye sykdommer – Fra fenomen til problem s 148 -163 i *Havbruksforskning: Fra merd til mat. Norges forskningsråd* 373s.
- Mørkøre, T., Åsli, M., Dessen, J-E., Sanden, K.W., Bjerke, M.T., Hoås, K.G. og Rørvik, K-A. (2013) *Tekstur og fett i laksefilet. FHF prosjekt 900653. Nofima rapport 38/2012.* 71 s.
- Polakof S, Médale F, Larroquet L, Vachot C, Corraze G, Panserat S.(2011) Regulation of de novo hepatic lipogenesis by insulin infusion in rainbow trout fed a high-carbohydrate diet. *J Anim Sci.* 2011 Oct;99(10):3079-88
- Richard N, Kaushik S, Larroquet L, Panserat S, Corraze G. (2006) Replacing dietary fish oil by vegetable oils has little effect on lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Br J Nutr.* 2006 Aug;96(2):299-309.
- Ruyter, B., Moya-Falcon, C., Rosenlund, G and Vegusdal, A. (2006) Fat content and morphology of liver and intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Effects of temperature and dietary soybean oil. *Aquaculture.* 252, 441-452.
- Seierstad SL, Svindland A, Larsen S, Rosenlund G, Torstensen BE, Evensen Ø. *J Fish Dis.* 2008 Jun;31(6):401-13. doi: 10.1111/j.1365-2761.2008.00913.x.
- Tørud, B. og Hillestad, M. (red.) (2004) "Hjerterapporten". Rapport om hjertelidelser hos laks og regnbueørret. <http://www.fiskerifond.no/files/projects/attach/hjerterapporten.pdf>.
- Vegusdal A, GjØen T, Berge RK, Thomassen MS, Ruyter B. 2005 Effect of 18:1n-9, 20:5n-3, and 22:6n-3 on lipid accumulation and secretion by Atlantic salmon hepatocytes. *Lipids.* 2005 May;40(5):477-86.

