



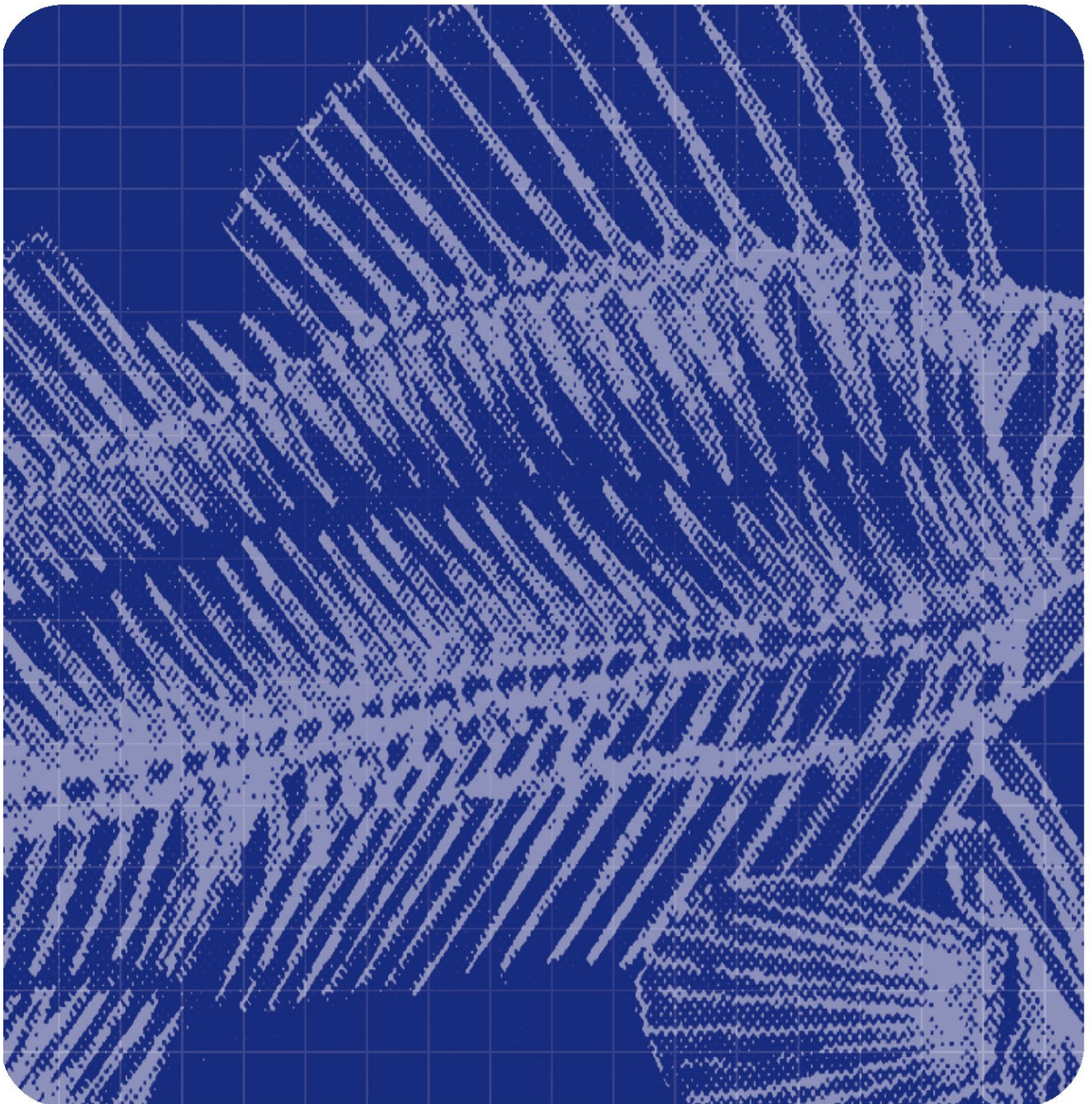
Fiskeriforskning

Faglig sluttrapport • Utgitt mars 2003

Sub-optimal vannkvalitet i ferskvannsfasen: Effekter på helse og risiko for IPN hos laks

Norges forskningsråd, prosjekt: 149527/120

Hilde Toften og Lill-Heidi Johansen





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

Konsernet består i dag av følgende selskaper:

Fiskeriforskning, Tromsø

Norut IT, Tromsø

Norut Samfunnsforskning, Tromsø

Norut Medisin og Helse, Tromsø

Norut Teknologi, Narvik

Norut NIBR Finnmark, Alta

Konsernet har til sammen vel 240 ansatte.



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

Gjennom strategisk næringsrettet forskning og utviklingsarbeid, i samarbeid med næringsaktører og det offentlige, skal Fiskeriforskningens arbeid bidra til utvikling av

- etterspurt sjømat
- aktuelle oppdrettsarter
- bioteknologiske produkter
- teknologiske løsninger
- konkurransedyktige foretak

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

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9-13

Postboks 6122

N-9291 Tromsø

Telefon: 77 62 90 00

Telefaks: 77 62 91 00

E-post: post@fiskeriforskning.no

Avdelingskontor Bergen:

Kjerreidviken 16

N-5141 Fyllingsdalen

Telefon: 55 50 12 00

Telefaks: 55 50 12 99

E-post: office@fiskeriforskning.no

Internett: www.fiskeriforskning.no

RAPPORT

<i>Tilgjengelighet:</i> Åpen	<i>Rapportnr.:</i>	<i>ISBN:</i>
<i>Titel:</i> Sub-optimal vannkvalitet i ferskvannsfasen: Effekter på helse og risiko for IPN hos laks	<i>Dato:</i> 14.03.2003	
	<i>Antall sider og bilag:</i> 11	
<i>Forfatter(e):</i> Hilde Toften og Lill-Heidi Johansen	<i>Sign. forskningssjef:</i>	
<i>Avdeling:</i> Havbruk / Marin bioteknologi og helse	<i>Prosjektnr.:</i> 1535	
<i>Oppdragsgiver:</i> Norges Forskningsråd / FHF-fondet	<i>Oppdragsgivers ref.:</i> 149527/120	
<i>3 stikkord:</i> Laksesmolt, IPN og vannkvalitet		

FORORD

Prosjektet ”*Sub-optimal vannkvalitet i ferskvannsfasen: Effekter på helse og risiko for IPN hos laks*” har vært gjennomført ved Fiskeriforskning AS i perioden november 2001 til mars 2003. Det må understrekes at resultatene i denne rapporten kun er foreløpige. Det gjennstående arbeidet med analyser, resultatbearbeiding og publisering/ formidling vil ikke ble slutført før i 2004. Fullføringen av dette arbeidet muliggjøres gjennom koordinering med andre prosjekt.

Vi vil først og fremst takke oppdrettsnæringa og FHF-fondet for finansieringen som gjorde det mulig å gjennomføre dette prosjektet. Takk også til prosjektets medarbeidere, samarbeidspartnerne og de ansatte ved Havbruksstasjonen i Tromsø for god faglig innsats.

INNHold

1	SAMMENDRAG.....	1
2	TITLE AND SUMMARY IN ENGLISH.....	1
3	FAGLIG RAPPORT FOR HELE PROSJEKTPERIODEN.....	2
	3.1 Bakgrunn	2
	3.2 Problemstilling	2
	3.3 Mål.....	3
	3.4 Gjennomføring og ressursbruk.....	3
	3.4.1 Organisering og arbeidsfordeling	3
	3.4.2 Aktiviteter og tidsforbruk	4
	3.4.3 Økonomisk forbruk.....	4
	3.5 Aktiviteter og resultater	4
	3.5.1 Forsøksdesign og aktiviteter	4
	3.5.2 Vannkvalitet	5
	3.5.3 Vekst hos fisk utsatt for ulike vannkvaliteter	6
	3.5.4 Dødelighet etter smitte med IPN virus.....	7
4	REFERANSER.....	9
5	OPPSUMMERING OG EGENVURDERING.....	10
6	FORMIDLING OG PUBLISERING.....	10
7	VEDLEGG.....	11

1 SAMMENDRAG

Infeksiøs pankreas nekrose (IPN) er en virussykdom som i økende grad er blitt et problem for norsk oppdrettslaks. Ved Fiskeriforskning har vi fokusert på sammenhengen mellom vannkvalitet i ferskvannfasen og IPN-relaterte problemer hos laks. I dette prosjektet ønsket vi å avklare om karbondioksyd (CO₂) og surhetsgrad (pH) er risikofaktorer for IPN utbrudd hos laks, og hvilke nivåer som eventuelt øker risikoen. Vi har derfor gjennomført en undersøkelse hvor grupper av laks i smoltifiseringsfasen ble eksponert for ulike CO₂ konsentrasjoner (4–20 mg/l) og pH nivåer (6,6–5,7) i 6 uker og deretter ble de overført til sjøvann og smittet med IPN virus. Resultatene viser at fisk utsatt for de høyeste CO₂ konsentrasjonene og lavest pH hadde lavere vekst enn kontrollgruppen, mens fisk eksponert for ulike pH nivåer alene vokste like godt som kontrollgruppen. Etter overføring til sjøvann og smitte med IPN virus var det en tendens til økt dødelighet hos grupper av fisk som i ferskvannfasen ble utsatt for de høyeste CO₂ konsentrasjonene og lavest pH. Lave pH nivåer alene så ikke ut til å gi seg utslag i noen økt dødelighet etter IPN smitte. Resultatene tyder på CO₂ konsentrasjoner fra 13-20 mg/l og påfølgende pH nedgang til 5,90–5,70, reduserer laksens vekstprestasjoner i ferskvann, men gir ikke signifikant økt risiko for IPN utbrudd. Men tendensen til økt dødelighet etter IPN smitte i de mest eksponerte gruppene og tidligere funn indikerer at man bør være varsom dersom man når CO₂ konsentrasjoner over 12-13 mg/l og pH verdier under 5,90. For å kunne dokumentere dette sikkert og for å finne andre faktorer som kan virke inn på alvorlighetsgraden av CO₂, er flere undersøkelser nødvendig.

2 TITLE AND SUMMARY IN ENGLISH

Sub-optimal water quality in the freshwater phase: Effects on health and risk of IPN in Atlantic salmon smolts

Infectious pancreatic necrosis (IPN) is a virus disease that has been an increasing problem for Norwegian salmon hatcheries. At Norwegian Institute of Fisheries and Aquaculture Research we have focused on reduced water quality in the freshwater phase as a risk factor for IPN-related problems in salmon smolts. In this project we wanted to reveal whether carbon dioxide (CO₂) and/or acidity (pH) are risk factors for IPN outbreaks in Atlantic salmon, and which levels that might increase the risk. Therefore, we have conducted an experiment in which groups of smoltifying salmon were exposed to different CO₂ concentrations (4–20 mg/l) and pH levels (6,6–5,7) for 6 weeks, and thereafter, transferred to seawater and challenged with IPN virus. The results show that fish kept in the highest CO₂ concentrations and lowest pH levels had lower growth rates than the control group, whilst fish exposed to different pH levels alone grew as well as the control group. After transfer to seawater and challenge with IPN virus, there was a tendency to increased mortality in groups of fish that previous had been exposed to the highest CO₂ concentrations and lowest pH levels. Low pH levels in the freshwater phase alone did not lead to any increased mortality when challenged with IPN virus. The results indicates that CO₂ concentrations from 13-20 mg/l and a pH decline to 5,90–5,70, reduces the growth performances of salmon in fresh water, but there is not a significant increase in risk of IPN outbreaks under these conditions. However, the tendency to increased mortality after IPN challenge in the most exposed groups combined with earlier findings indicates that one should be careful when reaching CO₂ concentrations above 12-13 mg/l and pH levels under 5,90. To give certain scientific evidence of this and to identify other factors that might influence the severity of CO₂, more examinations are necessary.

3 FAGLIG RAPPORT FOR HELE PROSJEKTPERIODEN

3.1 Bakgrunn

Et av de største problemene i dagens lakseoppdrettsnæring er virussykdommen Infeksiøs pankreas nekrose (IPN). Denne sykdommen rammer i hovedsak yngel, men i de senere år er det rapportert om et økende antall utbrudd rundt smoltifisering og inntil ett år etter utsetting i sjøvann. Tidligere forskning har vist at problemområdet er sammensatt, og i de siste årene har forskere ved Fiskeriforskning satt fokus på dårlig vannkvalitet som en risikofaktor for IPN-relaterte problemer hos laks.

Bakgrunnen er at det er blitt mer og mer vanlig med utstrakt bruk av oksygenering og resirkulering av produksjonsvannet i intensiv settefiskproduksjon. Denne utviklingen skjøt fart etter at produksjonsgrensene i settefisknæringa ble opphevet og det var behov for å øke produksjonen. Fordi vannressursene var begrenset ble den økte produksjonen gjort mulig ved å redusere vanngjennomstrømningen og øke innblandingen av rent oksygen i vannet. Imidlertid har disse kostnads- og vannbesparende tiltakene store konsekvenser for vannkvaliteten i karene. Redusert vannforbruk kombinert med høy produksjon fører til høye konsentrasjoner av karbondioksyd (CO₂) og ammoniakk (N-NH₃), lave pH-verdier og mye suspendert materiale fra fôrrester og ekskrementer i produksjonsvannet som kan være skadelig for fisken. Inntil nylig har det vært få konkrete vitenskapelige bevis for en sammenheng mellom sub-optimal vannkvalitet og økt risiko for IPN, men tidligere undersøkelser ved Fiskeriforskning har vist at oksygenering og lav vanngjennomstrømning gir redusert vekst og motstand mot sykdommer hos fisken, med økt mottakelighet for IPN virus og nedsatt produksjon som resultat (Sommer & Toften, 2001; Toften *et al.*, 2001). Disse innledende resultatene peker på sub-optimal vannkvalitet som en sannsynlig årsak til de økte IPN-problemene hos oppdrettslaksen, men for å påvise dette sikkert og eventuelt redusere omfanget av denne typen produksjonslidelser er det behov for økt kunnskap på dette området.

3.2 Problemstilling

I dette prosjektet ønsket vi å fokusere på noen av de vannkvalitetene som er mest karakteristisk for en situasjon med lav vanngjennomstrømning og oksygenering, nemlig høye CO₂ konsentrasjoner og lav pH i karvannet. Høye CO₂-konsentrasjoner og lave pH-verdier har i tidligere studier av laksesmolt blitt funnet å gi økt dødelighet, redusert vekst og en hel rekke fysiologiske responser forbundet med stress og hemmet smoltifisering (Staurnes *et al.*, 1998; Wedemeyer, 1996; Fivelstad *et al.*, 1999), men hvorvidt behandlingen også gir økt risiko for IPN eller andre sykdommer er ikke undersøkt. Vi ville derfor forsøke å avklare om CO₂ og pH er risikofaktorer i forhold til IPN utbrudd og hvilke konsentrasjoner som eventuelt øker risikoen. Det var først og fremst CO₂ og pH nivåer som er realistisk for næringen som vi ville undersøke, og vi har derfor tatt utgangspunkt i CO₂ verdier som er vanlige i produksjonsvannet i norske settefiskanlegg (Rosten *et al.*, 2002), det vil si nivåer på 9 til 20 mg/l CO₂. Fordi karbondioksyd er en svak syre vil pH verdiene synke ved økende konsentrasjoner av CO₂.

3.3 Mål

Hovedmålsettingen med dette prosjektet var å avklare om langvarig sub-optimal vannkvalitet i ferskvannsfasen resulterer i økt risiko for utbrudd av IPN hos laksesmolt som smittes ved overføring til sjøvann.

Delmålene var å:

- Avklare om CO₂ og pH er risikofaktorer for IPN-relaterte problemer hos laks
- Undersøke hvilke konsentrasjoner av CO₂ og pH som eventuelt gir økt risiko for IPN
- Undersøke om kombinasjonen av CO₂ og pH gir responser som er additiv, synergistisk eller antagonistisk
- Gi anbefalinger til fiskeoppdretterne om hvilke grenseverdier for CO₂ og pH som kan sikre fiskens helse og motstand mot IPN

3.4 Gjennomføring og ressursbruk

3.4.1 Organisering og arbeidsfordeling

Arbeidet har vært organisert som et prosjekt med prosjektleder, delprosjektleder og prosjektmedarbeidere. Alle disse har vært lønnet gjennom prosjektmidlene. I tillegg har vi hatt/ har flere samarbeidspartnere som har finansiert sitt bidrag gjennom andre prosjektmidler.

Prosjektleder: Seniorforsker Hilde Toften

Delprosjektleder: Forsker Lill-Heidi Johansen

Prosjektmedarbeidere:

Fiskeriforskning: Forskningsteknikerene Kjersti Nordgård Fredheim, Solveig Løken, Tone Bolin og Elin Sandaker; Forsker Linda Anett Hansen

Havbruksstasjonen i Tromsø: Røkterne Anita Knudsen og Asle Karlsen
Teknikerene Knut Nilsen, Knut Strand og Oddvar Haugli

Samarbeidspartnere:

Fiskeriforskning: Seniorforskerene Arne Mikal Arnesen og Børge Damsgård
NIVA: Forskningsassistent Torstein Kristiansen og forsker Bjørn Olav Rosseland
Universitetet i Bergen: Professor Sigurd Stefansson
Ifremer (Frankrike): Seniorforsker Gilles Lemariè

Hilde Toften har hatt det administrative og faglige ansvaret for prosjektet. Dette arbeidet har bestått i planlegging og gjennomføring av prosjektaktivitetene, møte- og personalledelse, framdriftsoppfølging og rapportering til oppdragsgiver. Lill-Heidi Johansen har hatt ansvaret for aktiviteter knyttet til smittedelen av prosjektet. Torstein Kristiansen og Bjørn Olav Rosseland har bidratt med analyser av en rekke vannparametre og noen biologiske tester. Sigurd Stefansson har ansvaret for analyser som inngår i evalueringen av smoltkvalitet. Arne Mikal Arnesen har bidratt til å kvalitetssikre og styre fiskens smoltfiseringsprosess samt prøvetaking som inngår i smoltevalueringen. Børge Damsgård har hatt ansvaret for fôrintaksmålinger som vil inngå i en total vurdering av fiskens velferd. Gilles Lemariè har bidratt til forsøksdesign og det tekniske opplegget for manipulering av vannkvaliteten.

3.4.2 Aktiviteter og tidsforbruk

Vi hadde opprinnelig planlagt å begynne forsøket i september 2002 og avslutte i desember 2002. Av praktiske årsaker ble forsøksstart utsatt litt over en måned. I all hovedsak skyldes forsinkelsen stor forsøksaktivitet ved Havbruksstasjonen. Dette førte til at karene vi skulle bruke først var ledige noen uker senere enn bestilt, og forsøket kunne dermed ikke starte opp før i slutten av oktober, noe som medførte avslutning av forsøket siste uka i januar 2003. I henhold til muntlig avtale med forskningsrådet ble ny dato for innsending av sluttrapport satt til den 15. mars 2003.

Som del av prosjektet har prosjektleder gjennomført et lengre opphold (september 2001 til juli 2002) ved Ifremer's akvakulturstasjon i Palavas-les-Flots i Frankrike. Der samarbeidet hun med forskerne Gilles Lemarié og Jean Paul Blancheton, begge aktive innen fagområdet vannkvalitet i resirkulering- og vanngjennomstrømningsanlegg. Dette oppholdet ga økt kunnskap og erfaring i å planlegge og gjennomføre denne typen teknisk krevende forsøk og gitt innsikt i målemetoder for ulike vannparametre, noe som har vist seg svært nyttig for gjennomføringen av dette forsøket. Gilles Lemarié besøkte Fiskeriforskning i september 2002, hvor han var med på ferdigstilling av fasilitetene og oppstart av forsøket.

Det totale tidsforbruk har vært som planlagt og det er heller ikke endringer i aktivitetene som ble angitt i søknaden.

3.4.3 Økonomisk forbruk

Det økonomiske forbruket har vært høyere enn planlagt, både når det gjelder drifts- og personalkostnader. Imidlertid har kostnader, ut over de kr. 500.000,- som ble tildelt fra FHF-fondet, blitt dekket over andre prosjekter. Disse andre prosjektmidlene muliggjør dessuten en utvidelse av forsøket med flere biologiske parametre og framtidig publisering av resultatene. Det er også brukt en del interne midler på å bygge opp fasilitetene og kjøpe inn nødvendig utstyr. Totalt er det brukt kr 1.196.000,- fordelt på 50.000,- i 2001 og 1.146.000,- i 2002. I 2003 vil det bli brukt kr 696.000,- for å slutføre arbeidet.

3.5 Aktiviteter og resultater

3.5.1 Forsøksdesign og aktiviteter

Forsøksvirksomheten varte i totalt 15 uker og var inndelt i tre faser (se også vedlegg 1): 1) Akklimering; 2) Sub-optimalt vannmiljø; 3) Smitte med IPN virus.

Fase I og II: Akklimering og sub-optimalt vannmiljø

Før og i akklimeringsfasen (2-3 uker) fikk alle gruppene tilnærmet identiske forhold. For å synkronisere smoltifiseringen, ble fisken holdt på kort dag (LD 6:18) fram til slutten av akklimeringsfasen, da den fikk kontinuerlig lys (LD 24:0).

I eksponeringsfasen ble grupper av laks utsatt for varierende CO₂ konsentrasjoner og pH verdier. Ren CO₂ gass ble, via en gassinnløser, tilsatt en delstrøm av ferskvannet som ble fordelt til de ulike karene gjennom et separat vannrørapplegg. Den ønskede CO₂ konsentrasjonen i hvert kar ble regulert ved hjelp av justeringsventiler. Et automatisk registreringsopplegg gjorde det mulig å kontrollere pH, oksygenmetning, temperatur fire ganger per døgn. Siden det er en direkte sammenheng mellom CO₂ konsentrasjonen og pH

nivå, ble pH verdiene brukt til å regulere innblandingen av CO₂. Likeledes brukte vi dette automatiske registreringsopplegget til å regulere surhetsgraden i pH-gruppene. pH'en i disse gruppene ble justert i henhold til pH verdiene i CO₂ gruppene. For å oppnå den reduserte pH'en ble hvert kar forsynt med varierende mengder ferskvann tilsatt saltsyre.

Når det gjelder de øvrige vannmiljøparametrene (temperatur, O₂, vanngjennomstrømning, strømhastighet og saltholdighet), så ble de holdt tilnærmet identiske i alle behandlingsgruppene. I tillegg ble det registrert /samlet inn prøver for analyser av andre vannkvalitetsparametre som alkalinitet, turbiditet, nitrogen, ammonium, nitrat, organisk karbon, aluminium, kalsium, natrium, klorid og metaller.

I både akklimerings- og eksponeringsfasen ble fisken fôret kontinuerlig fra 02.30 til 08.30 med Ewos Nutra Parr (3 mm) ved hjelp av fôrautomater.

Av biologiske parametre undersøkte vi fiskens vekst og dødelighet. Ved hjelp av andre prosjektmidler ble forsøket utvidet og flere andre parametre ble registrert (fôrinntak, plasmaioner, ATP-ase aktivitet i gjellene, vanninnhold i muskel, glukose og kortisol i plasma, blodgasser, oksydativt stress, aluminium i gjellene, nefrokalsinose, kondisjonsfaktor, kjønn og modningsstatus), men resultatene fra disse undersøkelsene vil bli rapportert i andre prosjektrapporter.

Fase III: Smitteforsøk med IPN virus

Etter 6 uker med behandling i ferskvann ble fisk fra alle grupper overført til Fiskehelselaboratoriet ved Havbruksstasjonen i Tromsø, hvor de ble sjøsatt og badsmittet i to parallelle kar med IPN virus. En usmittet kontrollgruppe ble også etablert der fisk gikk gjennom samme badsmitteprosedyre som smittet fisk, men uten tilsetning av smittestoff. Etter smitte ble akkumulert dødelighet registrert fortløpende i nesten 6 uker (39 dager). Dødlighet ble også registrert i de to parallelle kontrollkarene.

Fiskegruppen som ble benyttet i forsøket ble kontrollert for naturlig bærertilstand av IPN virus før start av forsøket og rett før sjøsetting/smitte ved utsæd av fornyre-prøver i cellekulturer.

Verifisering av IPN som dødsårsak etter smitte ble bestemt ved bruk av en kommersiell IPN virus hurtigtest (agglutinasjonstest) utviklet ved Veterinærinstituttet.

Fisken ble fôret kontinuerlig med samme fôr som tidligere, bare med økt pelletsstørrelse (4 mm). Temperatur, O₂ metning, vanngjennomstrømning, strømhastighet og saltholdighet ble justert og holdt tilnærmet like i begge behandlingsgruppene.

3.5.2 Vannkvalitet

Tabell 1 viser de CO₂ konsentrasjoner og pH verdier som de ulike gruppene av fisk ble eksponert for i dette forsøket. Resultatene viser at vi klarte å etablere behandlingsgrupper som var signifikant forskjellige fra kontrollgruppa og hverandre og som varierte relativt lite over tid. Det er også relativt god overensstemmelse mellom pH verdiene i de gruppene som hadde høy CO₂ konsentrasjon og de rene lav pH gruppene.

Den gjennomsnittlige oksygenmetningen lå rundt 89 - 90 % i alle behandlingsgruppene, og ingen grupper hadde signifikant forskjellige verdier (Tabell 1).

Tabell 1: Gjennomsnittlig CO₂, pH og O₂ metning (\pm SEM) for hele eksponeringsperioden i ferskvann (42 dager) i utløpsvannet fra karene i de ulike behandlingsgruppene og i innløpsvannet.

Gruppe	Antall replikater	CO ₂ (mg/l)	pH	O ₂ (% metning)
Kontroll	3	4,71 \pm 0,19 (39)	6,49 \pm 0,01 (66)	89,38 \pm 0,27 (155)
CO ₂ + pH (1)	3	9,62 \pm 0,30 (26)	6,04 \pm 0,01 (72)	89,69 \pm 0,25 (163)
CO ₂ + pH (2)	3	13,14 \pm 0,37 (26)	5,90 \pm 0,01 (72)	89,26 \pm 0,26 (161)
CO ₂ + pH (3)	3	20,37 \pm 0,45 (26)	5,65 \pm 0,01 (73)	89,44 \pm 0,26 (163)
pH (1)	2	5,05 \pm 0,31 (39)	6,03 \pm 0,01 (47)	89,68 \pm 0,29 (107)
pH (2)	2	5,17 \pm 0,29 (39)	5,96 \pm 0,02 (47)	89,96 \pm 0,33 (106)
pH (3)	2	5,60 \pm 0,28 (39)	5,75 \pm 0,02 (48)	90,33 \pm 0,32 (107)
Innløpsvann	-	3,10 \pm 0,16 (7)	6,80 \pm 0,02 (14)	101,80 \pm 0,85 (24)

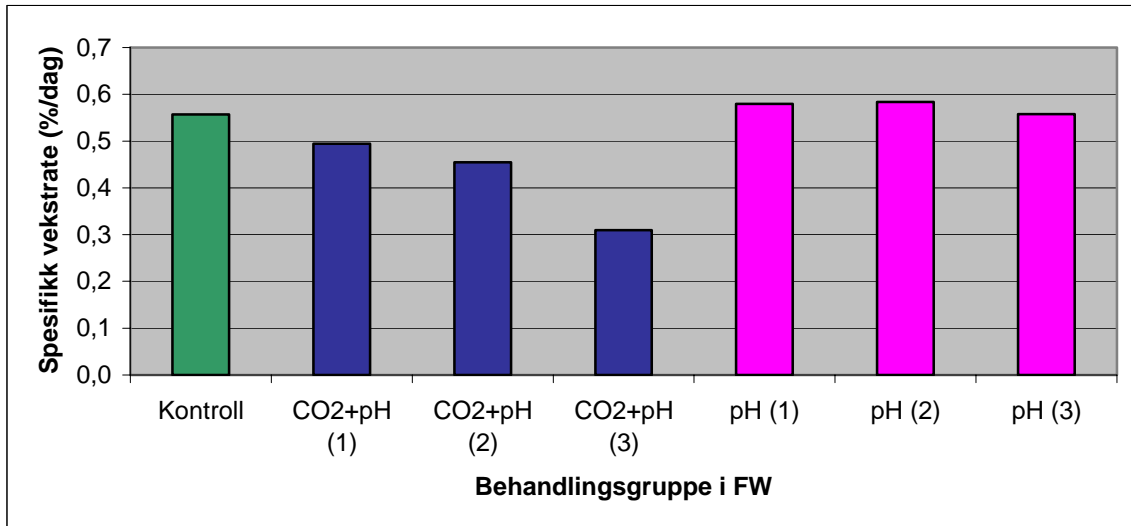
Vanntemperaturen (ca. 10 °C), vanngjennomstrømning (16 l/min) og strømhastighet (0,9 m/sek) ble justert i begynnelsen av forsøket og ble holdt stabil gjennom hele eksponeringsfasen.

I fase III (smittforsøk) ble fisken badsmittet i stagnert og oksygenert sjøvann i 3,5 timer. Deretter fikk fisken gode og tilnærmet like vannmiljøforhold (vanngjennomstrømning, strømhastighet, oksygenmetning og saltholdighet). Også i denne delen av forsøket ble vanntemperaturen holdt på ca. 10 °C.

3.5.3 Vekst hos fisk utsatt for ulike vannkvaliteter

Vekstresultatene viser en nedadgående trend for fisk som i ferskvann ble utsatt for forhøyede CO₂ verdier og lave pH verdier (Figur 1), men det var bare fisk i de to gruppene med høyest CO₂ konsentrasjoner som hadde signifikant lavere vekst enn kontrollgruppa (Toveis ANOVA test, $p < 0,05$). Andre resultater (ikke presentert her) viser at dette sannsynligvis skyldes redusert appetitt. Dette tyder på at behandlingen har fungert og at den har hatt en negativ effekt på fiskens prestasjoner i smoltfiseringsfasen. Hvorvidt behandlingen også har innvirket på smoltkvalitet og smoltens prestasjoner etter overføring til sjøvann er mulig, men dette vil bli undersøkt senere i et annet prosjekt.

Fisk som ble utsatt for ulike surhetsnivåer viser ingen tegn til vekstdepresjon (Figur 1), noe som tyder på at langvarig eksponering for pH verdier ned til 5,75 ikke hemmer vekstutviklingen hos laks under smoltfisering.



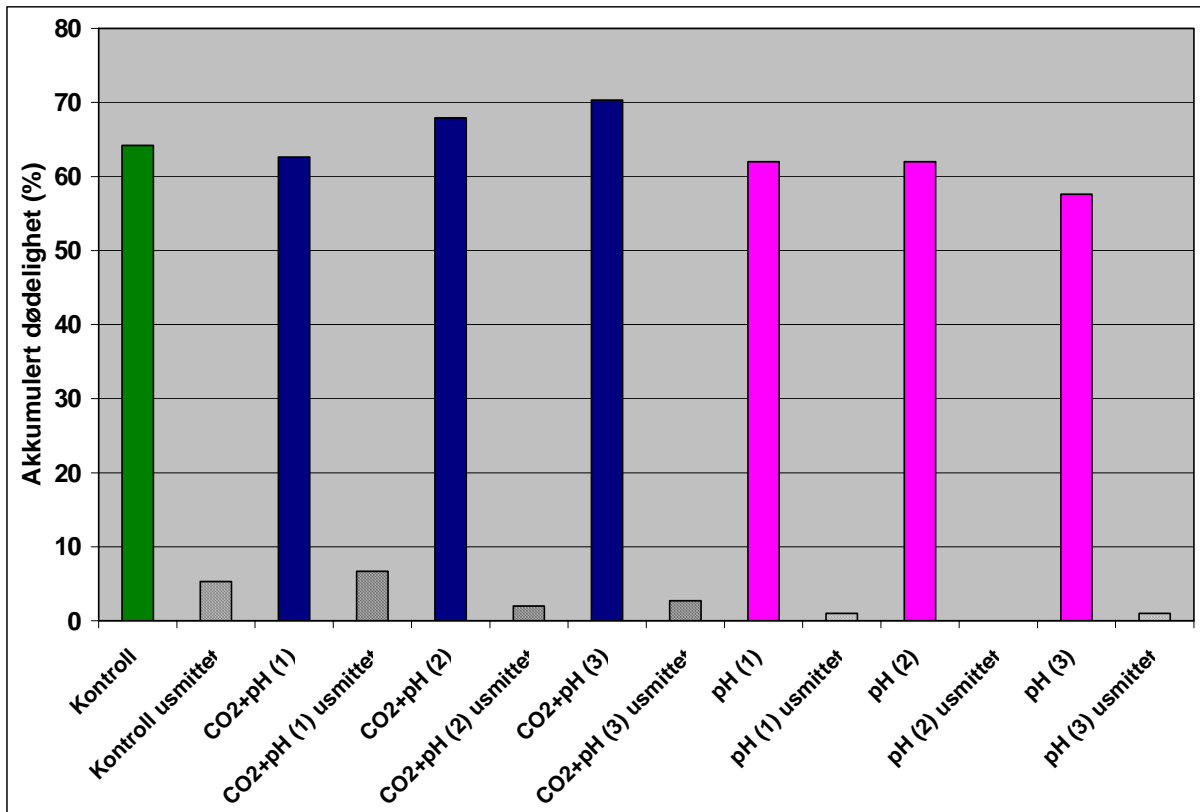
Figur 1: Spesifikk vekstrate (%/ dag) hos laks som i smoltifiseringsfasen ble utsatt for varierende vannkvaliteter (kombinasjon av forhøya CO₂ konsentrasjoner og lave pH verdier og kun lave pH nivåer) i 6 uker i ferskvann (FW).

3.5.4 Dødelighet etter smitte med IPN virus

Det er en tendens til økende akkumulert dødelighet etter smitte med IPN virus i sjøvann hos de to gruppene som i ferskvannsfasen hadde vært utsatt for høyest CO₂ konsentrasjoner og lavest pH verdier (Figur 2), men ingen av disse forskjellene var signifikant forskjellige (Chi-kvadrat test, $p > 0,05$). De andre behandlingsgruppene hadde alle samme eller lavere dødelighet enn kontrollgruppen. Lav pH alene ser dermed ikke ut til å ha noen innvirkning på laksens mottakelighet for IPN virus smitte. Dødeligheten i usmittet kontroll var lav (< 6 %), og heller ikke her var det noen signifikante forskjeller mellom behandlingsgruppene.

Tendensene i resultatene tyder på at det er en viss økt risiko for IPN ved de tøffeste betingelsene i vårt forsøk, men denne risikoen synes ikke veldig stor. Når vi ser på CO₂ verdiene isolert, betyr det at de nivåene som de fleste norske settefiskanlegg er rapportert å ligge innenfor, ikke representerer en særlig stor risiko for IPN. Imidlertid vet vi at situasjonen i settefiskanleggene er mye mer komplekse og at andre stressfaktorer kan medvirke til at disse CO₂ nivåene likevel kan være et potensielt helseproblem. I vår tidligere undersøkelse fant vi en klar sammenheng mellom dårlig vannkvalitet som følge av høy oksygenering (274 % metning) og lav vanngjennomstrømning og økt mottakelighet for IPN virus hos laksesmolt (Sommer & Toften, 2001; Toften *et al.*, 2001). I denne undersøkelse ble CO₂ konsentrasjonen målt til 12 mg /l og pH var 5,95. Forskjellene i respons i disse to studiene tyder på at andre faktorer i tillegg til CO₂ og pH må ha medvirket i vår første undersøkelse. Hvilke faktorer det kan være er usikkert, men det er flere potensielle kandidater. En forskjell mellom de to studiene er variasjonen i karvannets oksygenivå. I det siste forsøket hadde vi større kontroll over oksygenivået i karene og klarte å holde denne stabil for alle gruppene gjennom hele eksponeringsperioden. I det første forsøket varierte oksygenivået mer, spesielt i de to karene som hadde høy tetthet, lav vanngjennomstrømning og oksygenering. Fra andre forsøk vet vi at giftigheten av for eksempel ammoniakk øker med minkende oksygenivå (Lloyd, 1961; Alabaster *et al.*, 179; Thurston *et al.*, 1981; Wajsbrodt *et al.*, 1991) og nylig er det vist at toleransen for ammoniakk øker med økende oksygenivå (Foss, 2002). Hvorvidt det er en liknende sammenheng mellom oksygenivå og CO₂ konsentrasjoner er mulig, men så langt vi

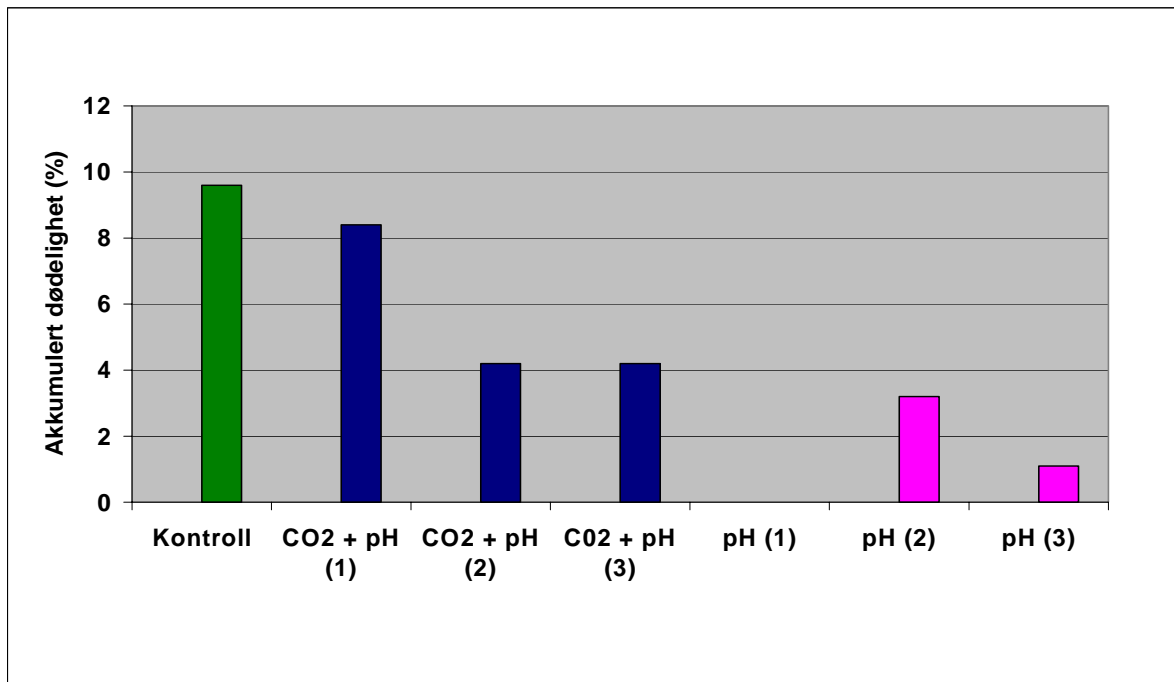
kjenner til er ikke det vitenskapelig bevist enda. Andre forskjeller som kan ha hatt betydning er tetthet og andre avfallsprodukter som ammoniakk, fosfor, urea, suspendert materiale fra fôrrester og ekskrementer i produksjonsvannet.



Figur 2. Akkumulert dødelighet (%) i smittede grupper og usmittede kontrollgrupper ved avslutning av smitteforsøk med IPN virus i sjøvann. Hver av stolpene viser gjennomsnittet for to parallelle kar med tilsammen 100 (pH gruppene) og 150 (CO₂ + pH gruppene og kontroll gruppen) fisk.

Dødeligheten etter IPN smitte ble noe høyere enn forventet i kontrollgruppen i forhold til hva som er oppnådd i andre smitteforsøk med samme generasjon laks. Årsaken til dette er ikke kjent. Imidlertid hadde kontrollgruppen høyere dødelighet enn de andre gruppene (ca 10 %) første uken etter sjøsetting og smitte (Figur 3). Denne dødeligheten skyldes ikke IPN, men kan ha sammenheng med den totale belastningen forbundet med behandling, håndtering og transport og/eller mangelfullt utviklet sjøvannstoleranse hos enkelte individer.

På grunn av den store fiskemengden som skulle måles og håndteres i forkant av smitteforsøket, måtte dette skje over 3 dager. Det medførte at fisk fra ulike kar ble overført til FHL på ulike tidspunkt og noen av fiskene fikk dermed bedre tid til å tilpasse seg de nye forholdene enn andre. En korrelasjonsanalyse mellom dødelighetsnivået hos smitta fisk og tid til tilpasning viste en signifikant negativ sammenheng, det vil si at grupper av fisk som fikk mer tid til tilpasning hadde lavere dødelighetsfrekvens. En liknende tendens ser vi også hos usmitta kontrollgrupper. Dette har nok bidratt til støy i datamateriale, noe vi vil forsøke å unngå ved senere anledninger.



Figur 3. Akkumulert dødelighet (%) første uke etter sjøsetting i grupper smittet med IPN virus. Hver av stolpene viser gjennomsnittet for 2 parallelle kar med til sammen 100 (pH gruppene) og 150 (CO2 + pH gruppene og kontrollgruppen) fisk.

Bæretilstand i fiskegruppen ble kontrollert før start av forsøket og rett før sjøsetting/smitte, og av totalt 80 undersøkte fisk var det ingen som ble påvist å være bærere av IPN virus.

4 REFERANSER

- Alabaster, J.S., Shurben, D.G. & Knowles, G. (1979). The effect of dissolved oxygen and salinity on the toxicity of ammonia to smolts of salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish. Biol.*, 15: 705-712.
- Fivelstad, S., Olsen, A.B., Kløften, H., Ski, H. & Steffanson, S. (1999). Effects of carbon dioxide on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts at constant pH in bicarbonate rich freshwater. *Aquaculture*, 178: 171-187.
- Foss, A. (2003). Growth performances of spotted wolffish (*Anarhichas minor* Olafsen): the role of water quality in intensive culture. Dr. scient. Thesis, Norwegian College of Fisheries Science/ University of Tromsø, Norway.
- Lloyd, R. (1961). Effect of dissolved oxygen concentration on the toxicity of several poisons to rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *J. Exp. Biol.*, 38(2): 447-455.
- Maroni, K., Rosten, T. & Kroglund, F. (1999). Vannkvalitetundersøkelsen – 99. *Norsk Fiskeoppdrett* 7: 30-31.
- Rosten, T., Salbu, B. og Rosseland, B.O. (2002). Foreløpige samlede resultater fra VK 99-2001 programmene i regi av NIVA, KPMG og NLH/Isotoplab. (tidligere LAK). Foredrag med resultater presentert på FHF program møte 21/10 2002.
- Sommer, A.-I. & Toften, H. (2001) Intensivt settefiskeoppdrett og utbrudd av infeksiøs pankreas nekrose (IPN). Sluttrapport Norges Forskningsråd, prosjekt nr. 133042/122.
- Staurnes, M., Nordtvedt, R. & Rosseland, B.O. (1998). Vannkvalitet. I: *Oppdrett av laksesmolt* (Hansen, T., ed.), pp. 87-113. *Landbruksforlaget*.

- Toften, H., Sommer, A.-I., Johansen, L.-H. & Fivelstad, S. (2001). Oxygenation and low water flow: Effects on growth and risk of IPN i Atlantic salmon smolts. Abstract presented at "The Cultivation of Salmon II", Bergen, Norway, 7-10 May.
- Thurston, R.V., Russo, R.C. & Vinogradov, G.A. (1981). Ammonia toxicity to fishes. Effect of pH on the toxicity of the un-ionized ammonia species. *Environ. Sci. Technol.*, 15(7): 837-840.
- Wajsbrot, N., Gasith, A., Krom, M.D. & Popper, D.M. (1991). Acute toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* under reduced oxygen levels. *Aquaculture*, 92: 277-288.
- Wedemeyer, G.A. (ed.) (1996). Physiology of fish in intensive culture systems. *Chapman & Hall*, New York, 232p.

5 OPPSUMMERING OG EGENVURDERING

Prosjektet ble i hovedsak gjennomført i henhold til hovedmål og delmålsetninger som ble skissert i søknaden. På grunn av forhold som vi ikke kunne råde over, ble oppstarten av forsøket, og følgelig, rapporteringen noe forsinket. Men totalt sett har vi holdt prosjektet innenfor de tids- og kostnadsrammer som var avtalt.

Selve gjennomføringen av forsøket var vellykket. Vi hadde ingen alvorlige uhell, og vi klarte å etablere og stabilisere behandlingen som planlagt. Vi ønsket i utgangspunktet å etablere en ren CO₂ behandlingsgruppe, men det viste seg vanskelig å gjennomføre innenfor tidsrammene, hovedsakelig på grunn av tekniske begrensninger i det etablerte anlegget. Videre, fikk vi gjennomført de planlagte prøvetakingene og undersøkelsene som var nødvendig for å dokumentere resultatene av behandlingen. I tillegg gjennomførte vi et utvidete prøvetakingsopplegg for å undersøke betydningen av sub-optimale vannkvalitetsforhold på fiskens fysiologi, smoltkvalitet og velferd.

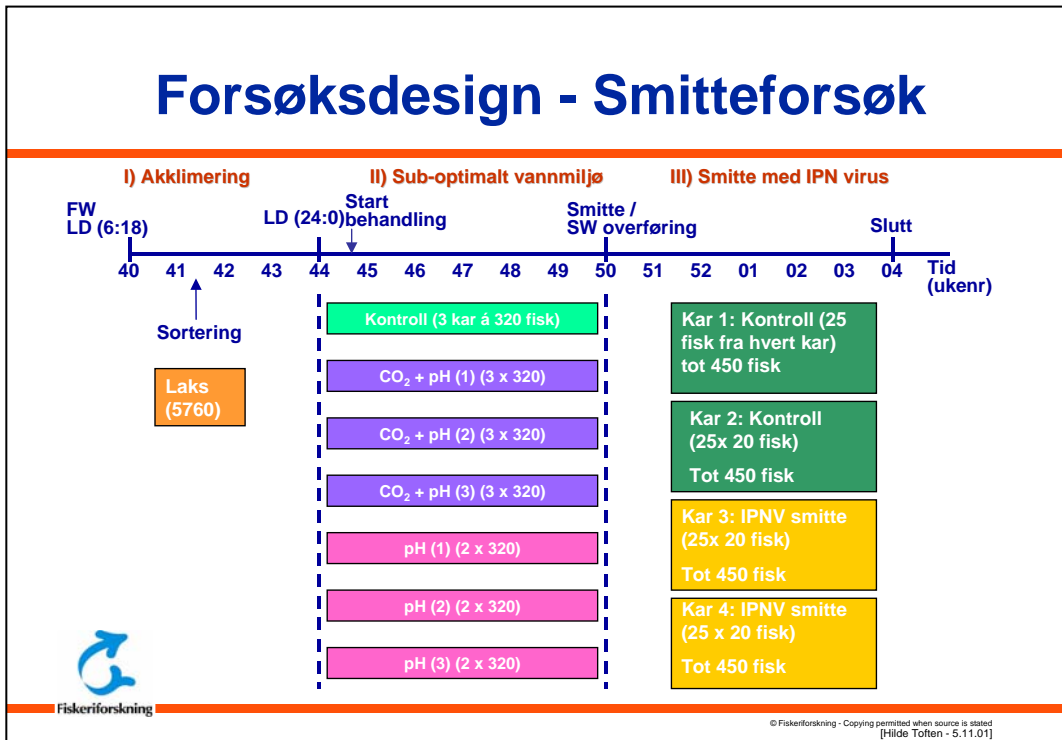
I ettertid ser vi at vi muligens bure ha hatt en ekstra behandlingsgruppe som fikk enda høyere CO₂ og pH belastning. Dette for å kunne dokumentere med større sikkerhet effektene av høye CO₂ konsentrasjoner og lave pH verdier på risikoen for IPN hos laks. På den andre siden er det jo først og fremst de nivåene som er vanlig i oppdrettsnæringa som er mest relevant å undersøke.

6 FORMIDLING OG PUBLISERING

Så langt har vi ikke formidlet eller publisert noen resultater fra dette forsøket, men vi har konkrete planer om det i løpet av 2003 og 2004. For det første vil problemstillingen og noen hovedresultater bli referert i Årsmeldingen (2002) fra Fiskeriforskning og vi vil lage et mer utfyllende infoark om dette i forbindelse med Aqua Nor 2003. Dette vil danne grunnlaget for en artikkel i Norsk Fiskeoppdrett i løpet av høsten 2003. Vi har dessuten meldt på et foredrag på EAS-konferansen som er tilknyttet Aqua Nor 2003. Vi planlegger å få resultatene publisert i et internasjonal tidsskrift med referee-ordning, fortrinnsvis *Aquaculture*, i løpet av 2004. I tillegg til dette ønsker vi å formidle resultatene direkte til næringsutøverne, og vi stiller selvfølgelig gjerne opp på forespørsel fra dem.

7 VEDLEGG

Oversikt over forsøksdesign





Fiskeriforskning

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9-13

Postboks 6122

N-9291 Tromsø

Telefon: 77 62 90 00

Telefaks: 77 62 91 00

E-post: post@fiskeriforskning.no

Avdelingskontor Bergen:

Kjerreidviken 16

N-5141 Fyllingsdalen

Telefon: 55 50 12 00

Telefaks: 55 50 12 99

E-post: office@fiskeriforskning.no

Internett: www.fiskeriforskning.no