

Prosjektnummer: 152058/120.

Prosjekttittel:

Rygg- og kjevedeformiteter hos laks:

Genetisk disposisjon, mineralernæring og produksjonstemperatur.

Prosjektperiode : 2002-2004

Ansvarlig institusjon: AKVAFORSK

Prosjektleder: Grete Bæverfjord

Samarbeidspartnere: AquaGen, Ewos Innovation

Finansiering: Norges Forskningsråd med midler fra Fiskeri og Havbruksnæringens
Forskningsfond (FHF)

Sluttrapport

Sammendrag

Resultatene fra dette prosjektet har vist en klar effekt av mineralernæring på utvikling av misdannelser i rygg- og kjevebein hos laks. Prosjektet viser at fôr med innhold av fosfor som er på linje med publiserte behov gir beinmisdannelser når fisken vokser raskt. Særlig tydelig er dette for kjevemisdannelser, der resultatene viser at hakeslepp induseres av knapp mineralforsyning tidlig i ferskvannsstadiet, i kombinasjon med høg temperatur og rask vekst.

Forsøksfisken stammet fra et ”skreddersydd” rognmateriale som bestod av fisk med ulik genetisk disposisjon for ryggdeformiteter. Denne fisken fikk fôr med ulikt mineralinnhold i ulike perioder mellom startfôring og fram til tilnærmet slaktemoden størrelse. Innholdet av fosfor i forsøksfôrene var 1,1-1,2 %, noe som er i tråd med publiserte behov, basert på en fordøyelighet på 50% og en fôrfaktor nær 1. I første forsøksperiode, fram til 20g størrelse, ble det i tillegg brukt et fôr med 70 mg/kg sink, i tillegg til 1,1% fosfor. Som kontroll ble det brukt et fôr med ekstra tilsetning av disse to mineralene. Fra startfôring og fram til 20g størrelse ble de ulike gruppene holdt på to ulike temperaturer, hhv. 12 og 16 °C. Fisken ble satt i sjø som 0-årssmolt i oktober 2003, og fulgt fram til en størrelse på ca 2 kg.

Resultatene viser at et innhold i fôret på 1,1 % fosfor var for lite til å sikre normal beindannelse, særlig i perioden fra startfôring og utover, når veksthastigheten var spesielt høg. Ryggvirvlene hos fisk som fikk for lite fosfor var mangelfullt utviklet. De var små og dårlig mineraliserte og hadde avvikende form. I disse gruppene ble det observert fisk med platyspondyli, dvs flate virvler, etter hvert som fisken kom opp i størrelse (>1kg). Hos en stor andel av fisken ble det observert en tydelig knekk i halerota. Det ble også observert store innslag av kjevemisdannelser, og vi fikk etter hvert utviklet hakeslepp hos en del av fisken.

Resultatene gir grunnlag for ny og forsterket innsats for å sikre tilstrekkelig forsyning med fosfor og sink i fôr til laks.

Bakgrunn

I dette prosjektet har vi kombinert tre årsaksfaktorer som hver for seg har dokumentert effekt på utvikling av beinstrukturer hos laks.

Mangelfull mineralisering av beinvev har lenge vært mistenkt som medvirkende årsak til utvikling av ryggdeformiteter. Oppmerksomheten har særlig vært rettet mot mengde tilgjengelig fosfor. Studier av fosformangel hos laks har vist at laks med fosformangel utvikler ryggvirvler som er for mjuke og for korte, med økt kondisjonsfaktor som resultat. Analyser av fisk som har gått på kommersielle fôr fra ulike produsenter har vist at innholdet av de viktigste beinmineralene, kalsium og fosfor, kan være unormalt lavt. Det er også påvist en betydelig genetisk variasjon mellom familier i evnen til å utnytte fosfor fra fôret, samt en stor variasjon i biotilgjengelighet av fosfor mellom enkeltindivid. I samarbeidsprosjektet "Feilutvikling og deformiteter hos laks" (1997-1998) ble det gjort studier som viser at tilgjengeligheten av fosfor fra kommersielle fôr kan være betydelig lavere enn de verdiene som det tidligere har vært vanlig å legge til grunn ved beregning av behovsdekning. Det er også kjent at innblanding av vegetabiliske fôrmidler som soyamjøl i fôret kan gi lavere fordøyelighet av fosfor, og at tilgjengeligheten av fosfor fra vanlig brukte fiskemel kan være svært lav.

Produksjonstemperatur i ferskvannsfasen ble identifisert som årsaksfaktor for utvikling av ryggdeformiteter gjennom prosjektet "Deformities induced by temperature stress in Atlantic salmon and rainbow trout" (2001-2004). Her ble det vist at høge temperaturer i perioden etter startfôring induserer sammenvoksning av ryggvirvler.

Betydningen av **genetiske faktorer** for utvikling av deformiteter har vært vist i ulike sammenhenger. Hos laks er det vist at det er en betydelig genetisk variasjon i disposisjon til stede mellom ulike familier.

I dette prosjektet er disse tre forsøksfaktorene kombinert, i et forsøksopplegg som dekker størstedelen av livssyklus. Fisken ble fulgt fra startfôring, gjennom ferskvannsfasen til utsett som nullårsmolt, og til tilnærmet slaktemoden størrelse 10-13 mnd etter utsett i sjø.

Forsøksopplegg:

Genetisk materiale:

Ved stryking av stamfisk ved Aqua Gen høsten 2002 ble det gjort et utvalg av stamfisk, basert på registrert forekomst av deformiteter hos søsken. Foreldrefisken ble delt i tre grupper, som ble brukt til å produsere tre rogngrupper med ulik genetisk disposisjon for utvikling av deformiteter. De tre genetiske gruppene er i det følgende kalt H (høy), M (middels) og L (lav). Dette fiskematerialet er brukt gjennom hele forsøket.

Denne rogn ble brukt også i et forsøk som ble gjennomført samtidig. Det hadde som mål å undersøke effekten av høy temperatur i plommesekkfasen på feilutvikling hos laks. Denne fisken fikk kommersielt fôr i ferskvannsfasen, og gikk under nøytrale og gunstige oppdrettsbetingelser. Overskuddsfisk fra dette forsøket ble seinere brukt i sjøvannsfasen i hovedforsøket (se under).

Produksjonstemperatur:

Basert på tidligere studier ble følgende forsøksstemperaturer brukt i første periode (startfôring-20g): 12 °C (kontroll) og 16 °C (høg).

Mineralinnhold i fôr:

I samråd med Ewos Innovation ble det formulert tre serier av forsøksfôr med ulikt innhold av fosfor (P) og sink (Zn):

| | Beskrivelse | Fosfor (P) | Sink (Zn) |
|------------|--------------------------|------------|---------------|
| Fôr K | Kontroll | 17-18 g/kg | 140-190 mg/kg |
| Fôr LP | Lavt fosfor | 10-12 g/kg | 140-190 mg/kg |
| Fôr LP-LZn | Lavt fosfor og lavt sink | 10-12 g/kg | 50-80 mg/kg |

Nivåene av P og Zn i fôrene ble basert på typisk tilgjengelighet av P og Zn i fiskefôr og fôrutnytting (fôrfaktor) hos raskt voksende fisk, slik at fôr K skulle dekke behovet for både P og Zn, fôr LP skulle dekke behovet for Zn men gi marginal P mangel, og fôr LP-LZn skulle gi marginal mangel av både P og Zn. Med marginal mangel menes at dekingen av mineraler er utilstrekkelig for normal mineralisering, med tilstrekkelig for å opprettholde normal vekst. Ewos Innovation produserte disse tre fôrene i ulike pelletstørrelser, til bruk gjennom hele forsøksperioden. Unntaket var fôr LP-LZn, som ble brukt bare i første periode (Startfôring-20g). Fôret ble sammensatt av vanlig brukte ingredienser men med lavt P innhold, fôrene ble balansert ved tilsetning av fosfat og sinkulfat.

Gjennomføring:**Rognstadiet:**

Rogna ble hentet hos Aqua Gen Hemne og transportert til forsøkskleskeriet hos AKVAFORSK på Sunndalsøra, der den ble inkubert i spesialbygde enheter for små rognvolum. Det ble inkubert fire parallelle grupper av hver genetiske gruppe (H,M,L), og rogntemperaturen ble holdt kontrollert på 8 °C gjennom hele rogn- og plommesekkfasen. Etter ca 850 d° ble det tatt like antall yngel fra hver bakke, og fordelt på startfôringskar, i alt 36 kar med 240 fisk i hvert kar.

Første periode: Starfôring – 20g

I denne perioden ble forsøksfaktorene kombinert på følgende måte (Tabell 1):

Tabell 1.**Kombinasjon av forsøksfaktorer i perioden startfôring til 20g størrelse**

| Genetisk gruppe | Fôr | | |
|-----------------|-------|-------|--------|
| | K | LP | LP-LZn |
| H | 12 °C | 12 °C | 12 °C |
| | 16 °C | 16 °C | 16 °C |
| M | 12 °C | 12 °C | 12 °C |
| | 16 °C | 16 °C | 16 °C |
| L | 12 °C | 12 °C | 12 °C |
| | 16 °C | 16 °C | 16 °C |

For hver av disse 18 kombinasjonene var det planlagt to parallelle grupper, til sammen 36 grupper. Det skjedde en feilfordeling under oppstart, som gjorde at det ble fra 0 til fire grupper pr behandling. Den kombinasjonen som manglet var L-K-12 °C. To behandlinger var representert i fire kar, for disse ble ett av karene avsluttet, slik at forsøket nå bestod av 34 kar. For øvrig ble det vurdert slik at forsøket til tross for denne feilen ville gi svar på de aktuelle spørsmålsstillingene, og ble fortsatt uten avbrudd.

Det ble tatt prøver av fisken ved 1g, 5g og 20g størrelse. Ved 20g størrelse ble fisken undersøkt, målt og veid, og et utvalg av fisk fra hvert kar ble merket med elektroniske merker i buken (PitTag) og fordelt likt på fire større kar.

Andre periode: 20g – smolt (60g størrelse)

I denne perioden fikk fisken ett av to fôr; K eller LP, to parallelle kar pr fôr. Fisken i karene var en blanding av fisk fra de opprinnelige 34 karene, slik at en fikk seks ulike fôrkombinasjoner (Tabell 2):

Tabell 2.

Kombinasjon av fôrgrupper i andre periode, fra merking ved ca 20g til utsett i sjø ved ca 60g.

| Fôr i andre periode | Fôr i første periode |
|---------------------|----------------------|
| K | K |
| | LP |
| | LP-LZn |
| LP | K |
| | LP |
| | LP-LZn |

For hver fôrkombinasjon hadde en også et representativt utvalg av de ulike genetiske gruppene, og fra hver av de to temperaturbehandlingene i første periode.

Fôret med LP – LZn ble ikke videreført i andre periode. I disse gruppene var det klare, synlige mangelsymptomer allerede etter første periode. Det ble vurdert slik at en videreføring av dette fôret lå utenfor det som var målsetningen for prosjektet, nemlig å undersøke effektene av marginal behovsdekning av mineraler på et nivå som kan være aktuelt under kommersielle forhold. Av dyrevernsmessige hensyn ble det derfor ikke satt opp grupper med LP- LZn - fôr videre.

I denne perioden gikk fisken på vanntemperatur 7-9 °C. Fisken ble vaksinert. Det ble gjennomført lysmanipulering for å indusere smoltifisering, 6 uker kort dag etterfulgt av 5 uker på konstant lys. Fisken var klar til å settes i sjø som nullårssmolt i oktober 2003.

Perioden ble avsluttet med prøveuttak, der det ble tatt ut fisk til analyse etter et balansert opplegg, slik at strukturen i materialet fra første periode ble tatt vare på, dvs de tre genetiske gruppene, de to produksjonstemperaturene samt de seks ulike fôrkombinasjonene i tabellen over.

Tredje periode: Sjø

Fôringsforsøk i sjø

Ved utsett i sjø ble fisk fra genetisk gruppe M brukt i et fôringsforsøk som hadde som mål å undersøke effekten av marginal dekning med fosfor i fôret i sjøperioden spesielt. Det ble brukt to fôr, K og LP, og det var to parallelle nøter per fôr. Et representativt utvalg av fisk fra de ulike behandlingsgruppene i ferskvann ble brukt, begrenset til genetisk gruppe M.

I tillegg ble det supplert med et antall fisk fra samme rognmateriale, som hadde gått på kommersielt fôr gjennom hele ferskvannsproduksjonen, men som for øvrig var behandlet helt likt mht. vannforsyning, lysstyring, merking, vaksinerings osv. Denne fisken ble tatt med for å forsterke observasjonene mht. effekter av marginal forsyning med P i sjøvannsperioden.

Denne fisken fikk forsøksfôr fra utsett i sjø som nullåring i oktober 2003, til fôringsforsøket ble avsluttet med registreringer og prøveuttak i august 2004. Et utvalg av fisk ble seinere sendt til Norges Veterinærhøgskole for røntgenfotografering, med påfølgende uttak av fisk til mineralanalyser.

Vekstperiode i sjø

Et representativt utvalg av fisk som dekket alle kombinasjoner av fôrbehandling, genetisk disposisjon og produksjonstemperatur i ferskvann, ble satt ut i sjø som nullåring i oktober 2003. Denne fisken fikk kommersielt fôr og standard oppdrettsbetingelser for øvrig, fram til vekstperioden ble avsluttet i november 2004, ved snittvekt 2 kg. Målet med denne delen av forsøket var å se hvordan skjelettdeformiteter som var dannet i ferskvann utviklet seg videre når fisken ble stor. Forsøket ble avsluttet på samme måte som fôringsforsøket som er beskrevet over.

Tap av fisk i sjø

De fem nøtene som hørte til prosjektet ble utsatt for et skarv-angrep i nyttårshelga 2003-04. Liknende angrep hadde aldri forekommet tidligere ved dette anlegget. Overflata av nøtene var dekket med nett, og de største tapene kom ved at fuglen dykket og angrep fisk gjennom notveggen. Saken ble løst ved å legge ei ekstra not på utsida. Opptelling i mars 2003 viste at rundt regnet halvparten av fisken gikk tapt som følge av denne episoden. Gjennomgangen viste likevel at tapene var rimelig jevnt fordelt, og vi fant det hensiktsmessig å fullføre prosjektet med den fisken som var igjen.

Resultater:

I det følgende er det lagt vekt på resultater som gjelder deformiteter og mineralinnhold i fisk. En fullstendig resultatrapportering vil bli gjort i form av vitenskapelige publikasjoner. Videre gjenstår genetiske analyser. Disse analysene forutsetter full oversikt over øvrige resultater i de ulike delene av forsøket. De siste analysene var dessverre ikke klare før månedsskiftet mai-juni 2005. Det er krevende å arbeide med store mengder stor fisk. Sluttrapporten vil bli oppdatert med resultatanalyser mht genetisk disposisjon, og disse resultatene vil bli inkludert i vitenskapelig publisering av materialet.

Mineralinnhold i fisk

Veksthastigheten var generelt høy, og ble ikke påvirket av fôrtype. Konsentrasjonen av P og kalsium (Ca) i hel kropp var likevel dramatisk redusert i fisk som fikk LP-fôr både ved 5 og 20 g (Tabell 3), og denne tilstanden var forverret i fisk som fikk LP-LZn-fôr. Ca-konsentrasjonen i hel kropp ble mer påvirket av P-innhold i fôret enn P-konsentrasjonen, som resulterte i at Ca:P forholdet i fisk som fikk LP-fôr kun var 2/3 av forholdet i fisk som fikk K-fôr. Dette var tydelig tegn på P-mangel, og i samsvar med våre tidligere resultater for laks i denne livsfasen. Videre var Zn-konsentrasjonen i hel kropp hos fisk som fikk LP-LZn fôr halvert i forhold til fisk som fikk LP- og K-fôr. Dette sammenfalt med forverret mineralstatus og et Ca:P forhold som var halvert sammenlignet med fisk som fikk K-fôr.

Ved 60 g og etter smoltifisering var P- og Ca-statusen uendret hos fisk som hadde fått samme type fôr siden startfôring (Tabell 3). P- og Ca-statusen var imidlertid normalisert hos fisk som hadde fått LP opp til 20 g og deretter HP fram til 60 g. På samme måte var Zn-statusen normalisert i fisk som hadde fått LP-LZn-fôr fram til 20 g og deretter K- eller LP-fôr. Zn-statusen var likevel høyest i fisk som hadde fått K-fôr fram til 20 g.

Tabell 3.

Mineralinnhold i helkropp ved 20 g, etter fôring med forsøksfôr siden startfôring, og ved 60 g, etter smoltifisering og bytte av fôr ved 20 g.

| | | I helkropp | | | |
|-----------------|-----------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| | | P, mg/kg | Ca, mg/kg | Ca:P-ratio | Zn, mg/kg |
| <u>Ved 20 g</u> | | | | | |
| Fôr | | | | | |
| K | | 4668 ^a | 4476 ^a | 0.96 ^a | 56.2 ^a |
| LP | | 3431 ^a | 2232 ^b | 0.65 ^b | 50.1 ^b |
| LP-LZn | | 3140 ^a | 1689 ^c | 0.53 ^c | 23.5 ^c |
| <u>Ved 60 g</u> | | | | | |
| Fôr 20-60 g | Fôr <20 g | | | | |
| K | K | 4576 ^a | 4172 ^{ab} | 0.91 ^a | 60.4 ^{ab} |
| | LP | 4472 ^a | 3922 ^b | 0.88 ^a | 57.2 ^b |
| | LP-LZn | 4659 ^a | 4301 ^a | 0.92 ^a | 55.5 ^b |
| LP | K | 4201 ^b | 3424 ^c | 0.81 ^b | 72.5 ^a |
| | LP | 3803 ^c | 2723 ^d | 0.71 ^c | 57.5 ^b |
| | LP-LZn | 3649 ^c | 2519 ^d | 0.69 ^c | 51.1 ^b |

Ulike bokstaver ^{abc} viser forskjeller innen kolonne og størrelse (P<0.05).

Mineralinnhold i fisk i sjø viste stor variasjon. Disse analysene ble gjort ved homogenisering av 5 hel fisk, og det kan være vanskelig å oppnå god nok homogenisering når massen er så stor (~10 kg). Disse analysene vil derfor bli fulgt opp med separate analyser av bein. Askeinnholdet varierte fra 1,7 til 2,4 %, P fra 2900 til 4870 mg/kg, Ca fra 1720 til 5570 mg/kg, Ca:P ratio fra 0,59 til 1,14, og Zn fra 29 til 57 mg/kg. Det var dårlig samsvar mellom

analyser av parallelle grupper, og tilsynelatende liten sammenheng mellom de ulike fôrbehandlingene og innhold av aske og mineraler i disse analysene.

Undersøkelse av fisk ved 20g

Ved utvendig undersøkelse av fisken var det få synlige avvik ved 20g størrelse. I grupper som hadde fått fôr LP-LZn var det enkeltfisk med feilstillinger i underkjeven, og samtidig fisk med en sideveis knekk i halerota (Figur 1). Det var også enkeltfisk som var tydelig forkortet. I fisk fra fôr LP ble det observert antydninger til det samme, men det overveiende inntrykket i disse gruppene var normalt.

Figur 1

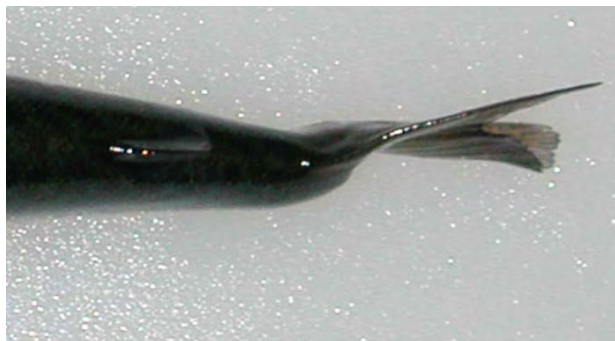
Synlige avvik ved 20g størrelse. Fisk fra fôrgruppe LP-LZn. a og b viser "gapere", fisk a har også tydelig unormal kroppsform. c viser antydning til "brett" i halerota, d viser en slik fisk sett fra siden. Disse avvikene ble observert hos et mindre antall fisk, nesten utelukkende i fôrgruppe LP-LZn.



a



b



c

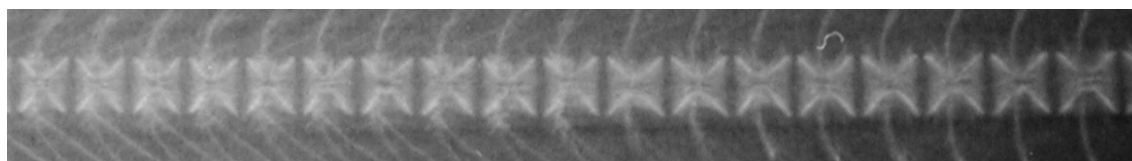


d

Ved røntgenundersøkelse av fisk ved 20g størrelse viste det seg et klart mønster relatert til mineralinnhold i fôr. Fisk som hadde fått fôr K hadde normale, godt mineraliserte skjelettstrukturer, både i hode og i ryggsøyle. Fisk som hadde fått fôr LP hadde virvler av avvikende form og med økt mellomrom, som ga inntrykk av å være dårlig mineralisert. I hodet var det en synlig bøy i ganebeinet hos en stor andel av denne fisken. Hos enkelte fisk var det også en bøyning i underkjeven. Hos fisk fra fôrgrupper LP-LZn var bildet ekstremt, med skyggeaktige virvler med store mellomrom. Se fig 2.

Figur 2

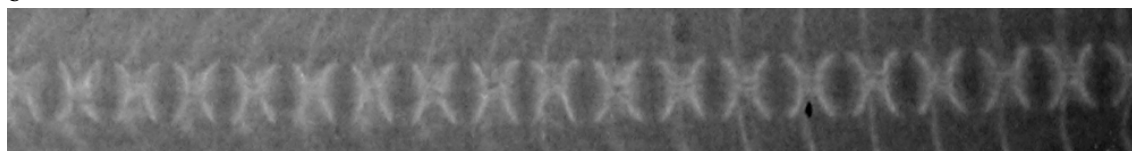
Røntgenbilder av fisk (20g) som har fått fôr med ulikt mineralinnhold fra startfôring til 20g størrelse. a) Kontrollfôr, K b) Lavt fosfor, LP c) Lavt fosfor og lavt sink, LP-LZn



a



b

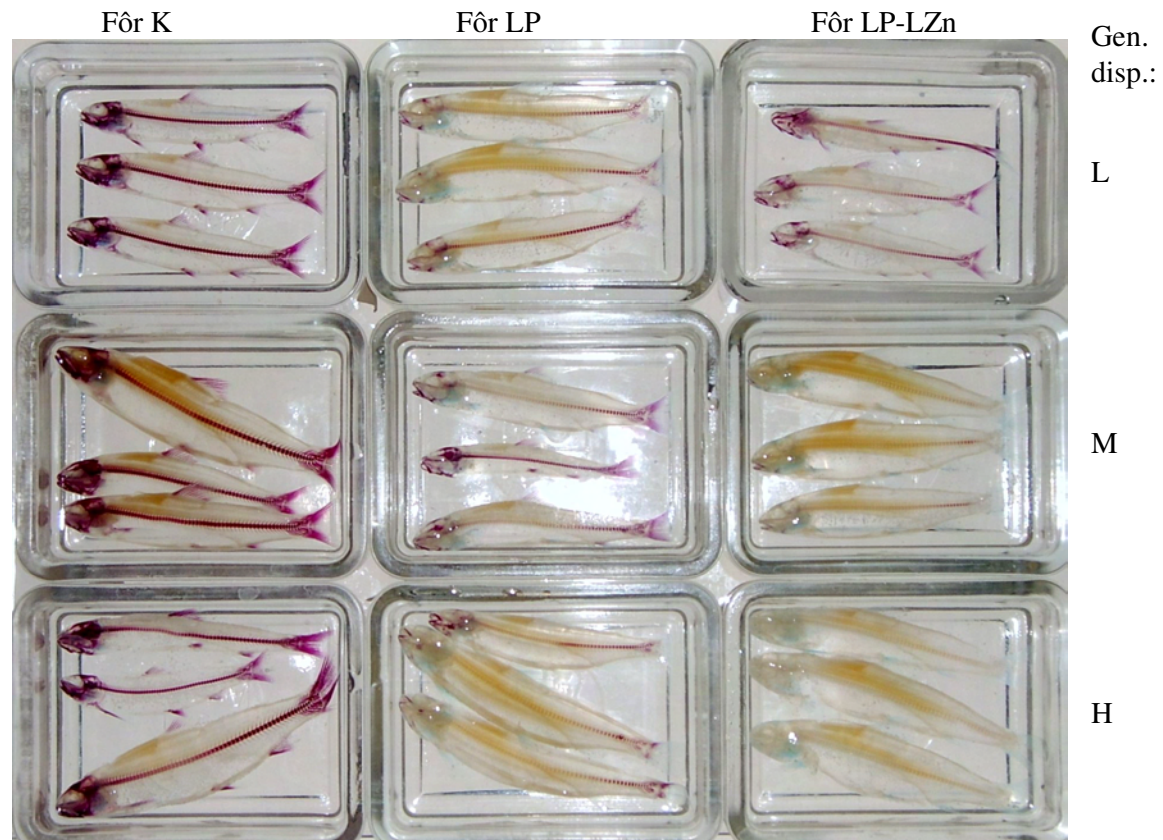


c

Helkroppsfarging med alizarin rød-alcian blå av et utvalg av fisk hentet fra 5g-uttaket bekreftet disse observasjonene (Figur 3). Alizarin rød binder seg spesifikt til de kalkholdige forbindelsene i skjelettet, og vi så svært varierende grad av innfarging relatert til fôr. Det var også en tendens til sammenheng med genetisk disposisjon, idet fisk fra genetisk gruppe H gjennomgående er svakest farget, i gruppe M er bildet liknende, men noe mer blandet, og i gruppe L er fisken sterkest farget, dvs. best mineralisert.

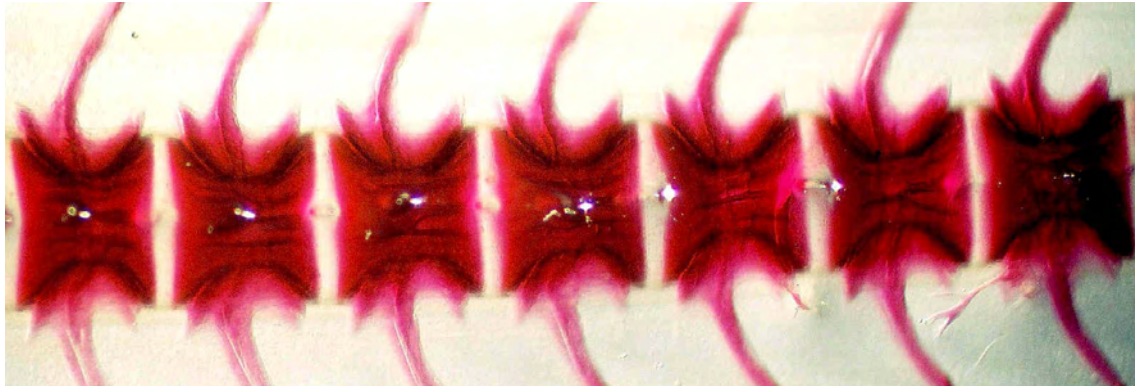
Figur 3

Helkroppsfarging med alizarin rød (bein) og alcian blå (brusk) som viser ulik grad av mineralisering i forhold til mineralinnhold i fôr og genetisk disposisjon for deformiteter. Graden av rødfarge gjenspeiler avleiring av kalsiumfosfater i beinet.

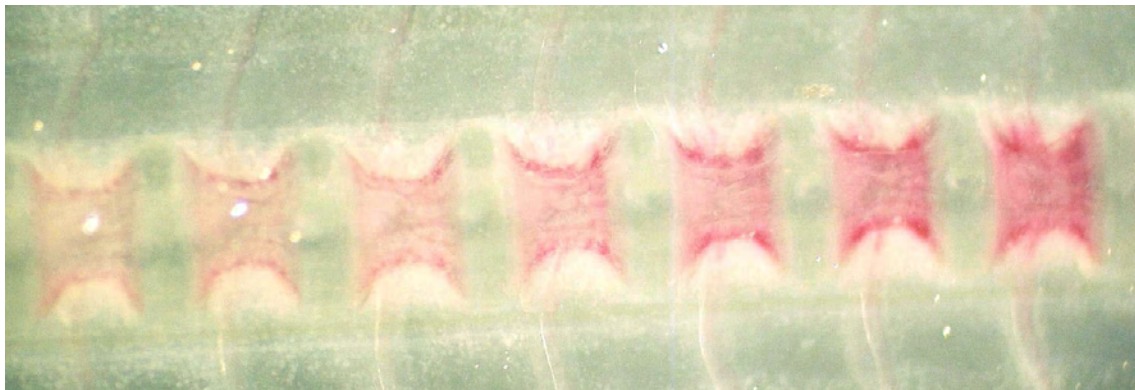


Ved nærmere undersøkelse ser vi at virvlene i de dårligst mineraliserte gruppene er tilstede som skygger av ikke-mineralisert vev, dvs at virvlene er dannet uten normal avleiring av kalsium- og fosfatrike salter (Figur 4).

Figur 4.
Detaljbilde av godt mineraliserte virvler (a) og dårlig mineraliserte virvler (b). Farging med alizarin rød.



a

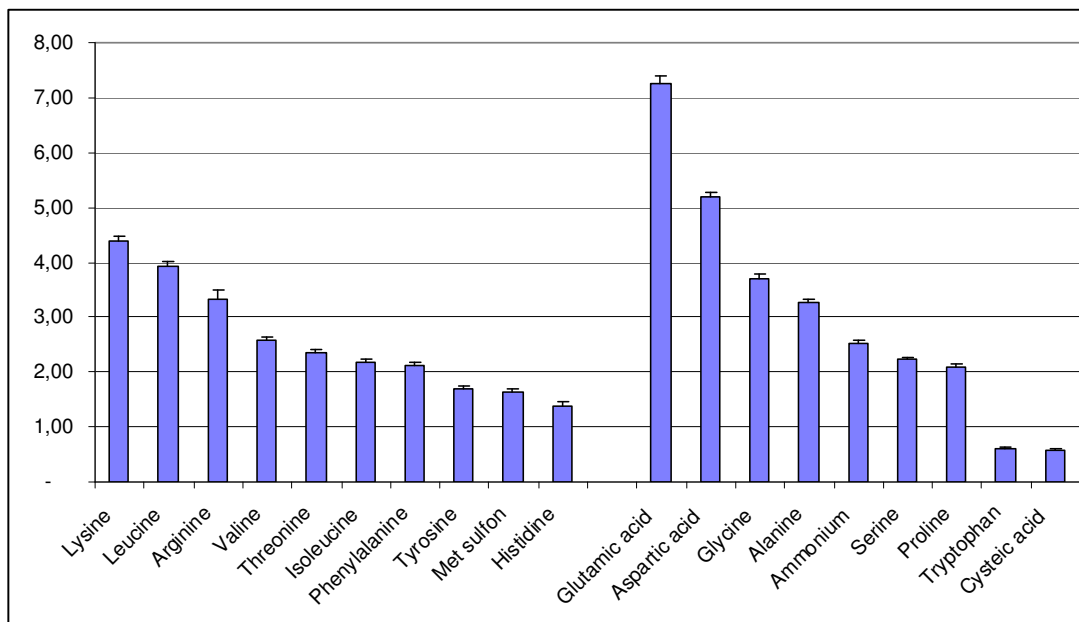


b

Analyser av aminosyreinnhold i fisken ved 20g størrelse viste normale profiler, og lite variasjon mellom de ulike forsøksgruppene (Figur 5). Det ble ikke funnet noen systematisk variasjon i forhold til mineraler i fôr, produksjonstemperatur eller genetisk materiale.

Figur 5

Totalt aminosyreinnhold (sum av fri og proteinbundne aminosyrer, aminosyrevekt i % av tørrstoff \pm SD). Laks, ca 20g. Essensielle aminosyrer til venstre, ikke-essensielle til høyre.



Undersøkelse av fisk etter andre periode, ved 60g størrelse

Ved 60 g størrelse var det i alt 6 ulike kombinasjoner av fôrbehandling i materialet, tre ulike fôr i første periode x 2 fôr i andre periode (se Tabell 2), i tillegg til genetisk disposisjon (H,M,L) og produksjonstemperatur 0-20g (12 °C og 16 °C).

Ved utvendig undersøkelse av denne fisken ble det her observert stort innslag av deformiteter (Figur 6, Tabell 4). Det var to typer deformiteter som dominerte, knekk i halerota og deformert underkjeve. For begge disse var det variasjon i uttrykket, men særlig knekk i halerota var nå lett å identifisere

Figur 6.

Synlige avvik ved 60g størrelse. a) Tydelig knekk i halerota, noe gapende munn, b) underkjeve med normal bue på kjevegreinene, c)-e) ulike grader av feil stilling av kjevegreinene. c: samme fisk som a. f) haleknekk sett fra siden



a



b



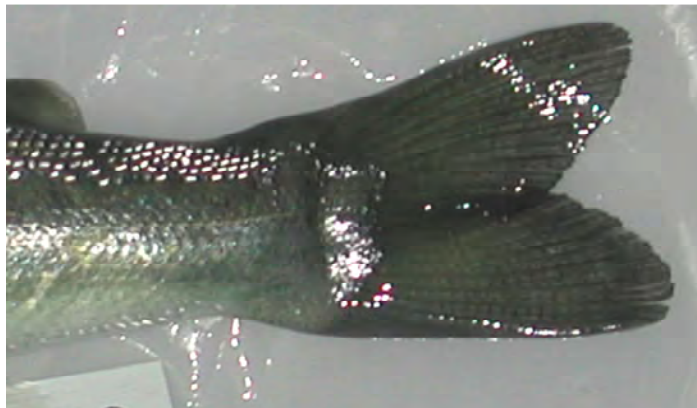
c



d



e



f

Tabell 4.

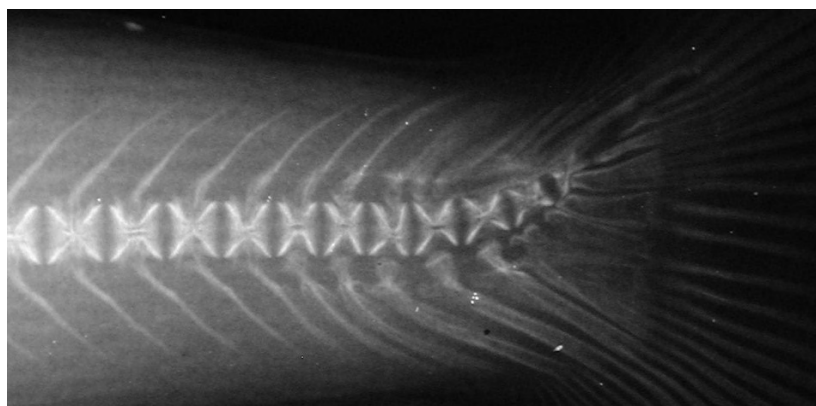
Sammenhengen mellom fôr i første og andre periode og forekomst av deformiteter ved 60g størrelse. Blind bedømmelse, dvs. uten kjennskap til fiskens gruppetilhørighet. n=300-500 pr gruppe.

| Fôr i andre periode | Fôr i første periode | Knekk i halerota, % | Unormal underkjeve, % |
|---------------------|----------------------|---------------------|-----------------------|
| K | K | 0 | 0 |
| | LP | 49 | 10 |
| | LP-LZn | 68 | 17 |
| LP | K | 0 | 0 |
| | LP | 47 | 18 |
| | LP-LZn | 67 | 32 |

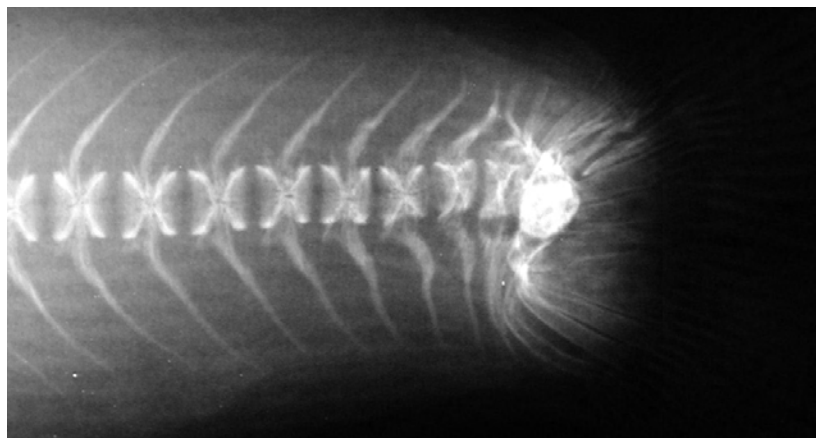
Det var også en del fisk som var uvanlig korte og butte i formen, men her var det langt vanskeligere å finne skillelinjene mellom normalt og ikke normalt.

Fig 7

Fisk med knekk i halerota. Røntgenbilde av fisk med haleknekk, sammenliknet med normal hale.



a) normale halevirvler

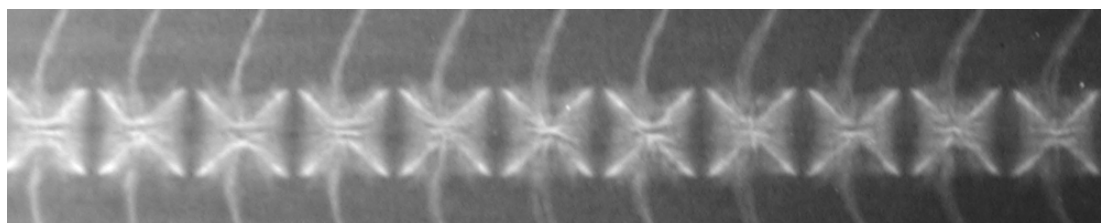


b) virvler fra fisk med unormal hale.

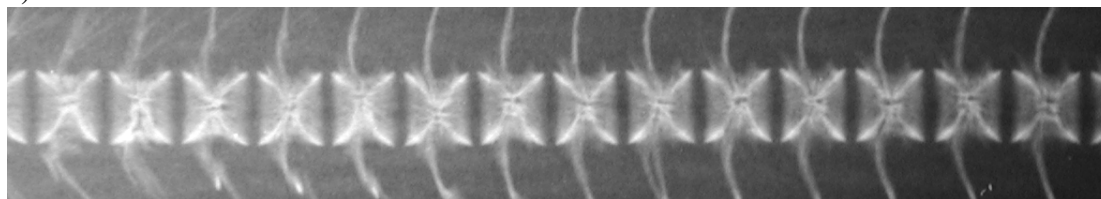
Røntgenbilder tatt ved 60g størrelse viste at fisken gjennomgående framstod som bedre mineralisert enn ved 20g størrelse, også den fisken som hadde fått fôr med lavt mineralinnhold i begge perioder i ferskvann. Dette samsvarer med kjemiske analyser (Tabell 3). Det var likevel klare mønster i avvik i beinstruktur. Typiske eksempler for de seks ulike fôrgruppene er vist under (Figur 8).

Fig 8

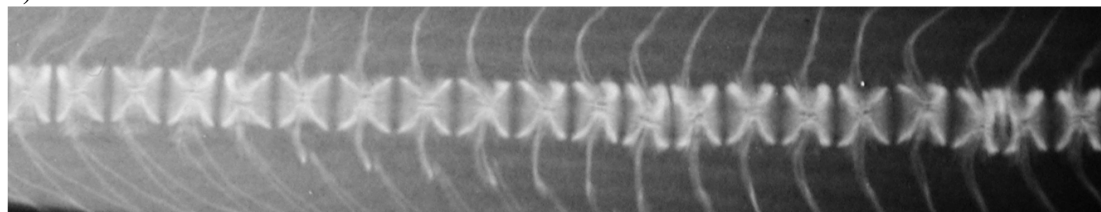
Form og struktur på ryggvirvler fra de seks fôrgruppene i andre ferskvannsperiode, 20-60g. Typiske eksempler er vist. n= 250-350 pr gruppe.



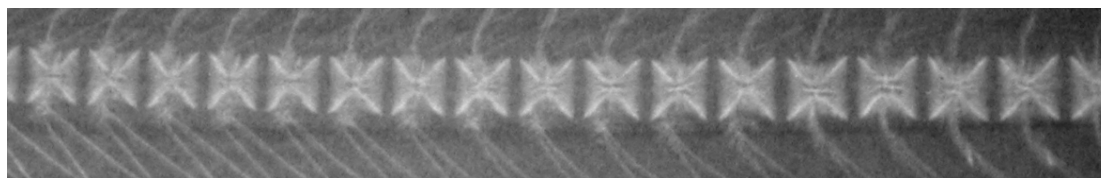
a) K - K



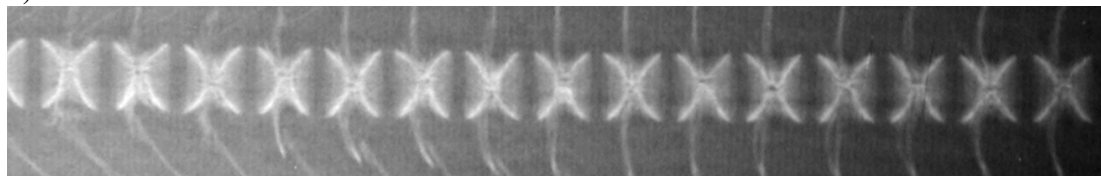
b) LP - K



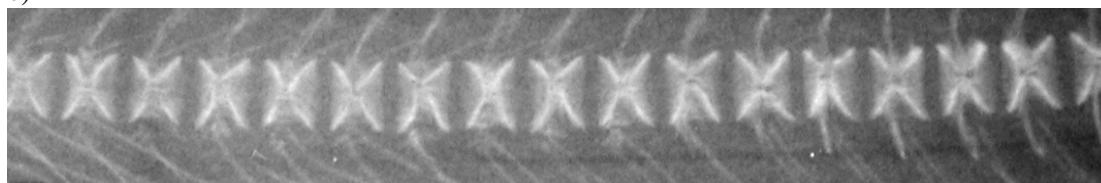
c) LP-LZn - K



d) K - LP



e) LP - LP



f) LP-LZn - LP

Ved denne størrelsen ble det også registrert klare forekomster av uregelmessig ganebein (Figur 9), og et betydelig innslag av krøllete ribbein. Innslaget av disse avvikene hadde også klare sammenhenger med fôr (Tabell 5).

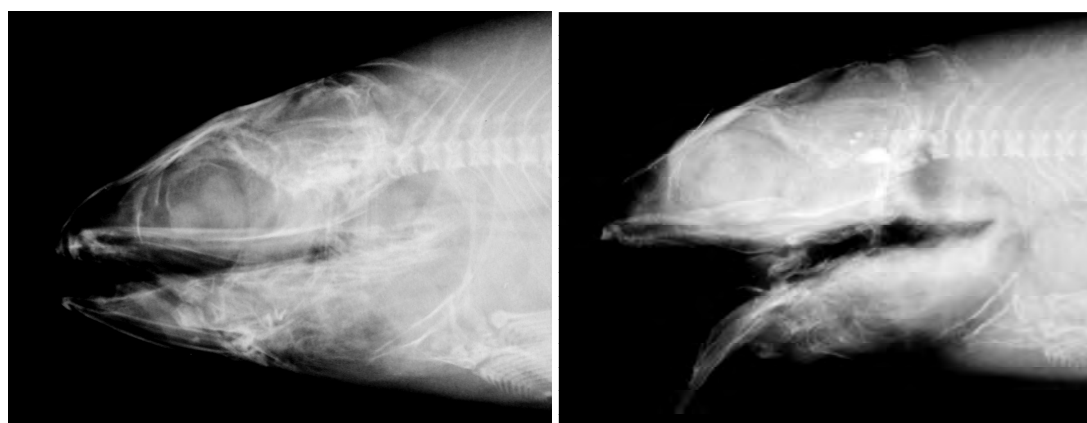
Tabell 5

Andel fisk med krøllete ribbein og unormal kurvatur på ganebein, bedømt på røntgenbilder ved 60g størrelse.

| Fôr i andre periode | Fôr i første periode | Krøllete ribbein, % | Unormalt ganebein, % |
|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| K | K | 0 | 0 |
| | LP | 71 | 80 |
| | LP-LZn | 96 | 95 |
| LP | K | 0 | 0 |
| | LP | 100 | 100 |
| | LP-LZn | 100 | 100 |

Figur 9

Røntgen av hode fra laks (60g størrelse). a) normalt hode, b) hode med hengende underkjeve (begynnende hakeslepp) og unormal kurvatur av ganebein.



a)

b)

Resultater, forsøk i sjø.

Hos all fisk som gjennomgikk forsøk i sjø ble det observert store innslag av deformiteter, og de beskrivelsene som er gitt under sammenfatter resultatene fra alle gruppene, dersom ikke annet er spesifisert.

Det var stor variasjon i kroppsform hos fisken etter hvert som den ble stor, og et stort antall fisk hadde klare lyter. Bedømmelsen av ytre form ble vanskeliggjort pga høge innslag av avvik i hale og kjeve. Kjeveforandringene som ble observert i ferskvann hadde nå manifestert seg på ulike måter. Hos en del av fisken var det nå utviklet ”hakeslepp”, der underkjeven var vridd nedover (Fig 10a). Hos andre var underkjeven forkortet og fortykket i ulik grad (Fig 10b). Den unormale knekken i halerota som ble observert i ferskvann var lett å identifisere på

stor fisk (fig 10c). Registreringer av disse avvikene i fôringsforsøket er summert under (tabell 6), relatert til fôr i ulike deler av livet.

Figur 10. Deformiteter hos stor fisk, observert som effekt av mineralinnhold i fôret. a) hakeslepp, b) forkortet og fortykket underkjeve, c) knekk i halerota pga komprimerte og feilstilte virvler i bakre del av ryggøylen



a



b



c

Tabell 6

Avvik i kjeve og hale, registrert ved avslutning av fôringsforsøk 10 mnd etter utsett i sjø.

Registreringer hos fisk som fikk forsøksfôr i alle perioder:

| Fôr 0-20g | Fôr 20-60g | Fôr i sjø | Haleknekk % | Kjevedef. % |
|-----------|------------|-----------|-------------|-------------|
| K | K | K | 0 | 4 |
| | K | LP | 5 | 7 |
| | LP | K | 0 | 2 |
| | LP | LP | 12 | 26 |
| LP | K | K | 30 | 21 |
| | K | LP | 33 | 13 |
| | LP | K | 36 | 22 |
| | LP | LP | 47 | 28 |
| LP - LZn | K | K | 32 | 26 |
| | K | LP | 50 | 18 |
| | LP | K | 50 | 18 |
| | LP | LP | 38 | 29 |

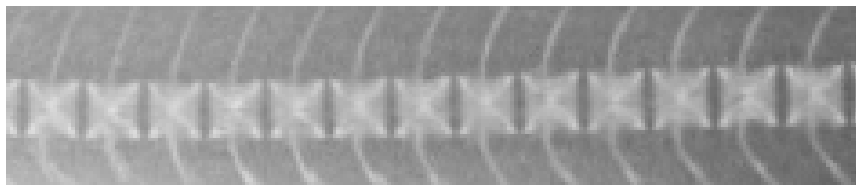
Registreringer hos fisk som fikk kommersielt fôr i ferskvann:

| Fôr 0-20g | Fôr 20-60g | Fôr i sjø | Haleknekk % | Kjevedef. % |
|-------------|-------------|-----------|-------------|-------------|
| Kommersielt | Kommersielt | K | 0 | 12 |
| | | LP | 7 | 11 |

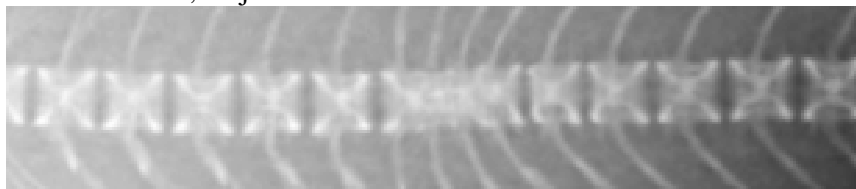
Ved røntgenanalyse av stor fisk etter avslutning av sjøvannsperioden var det feil i ryggvirvler hos et stort antall fisk, både i fôringsforsøket som ble avsluttet i august 2004 og i vekstforsøket som ble avsluttet i november samme år. Det eksisterer ikke noe klassifiseringssystem som er dekkende for de forandringene som ble observert. En foreløpig klassifikasjon er gitt som følger (Figur 11):

Figur 11.
Ulike typer avvik observert i ryggvirvlene. Røntgen.

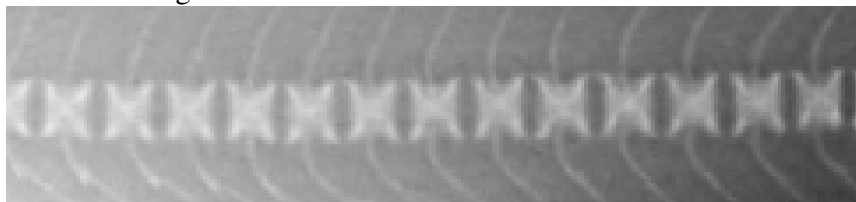
Normale virvler:



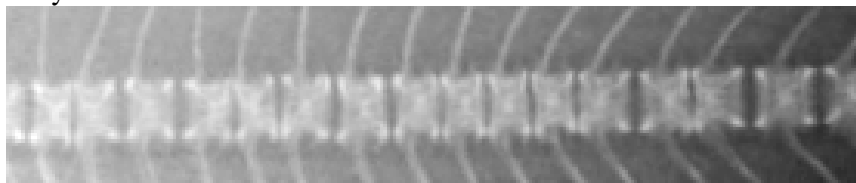
Sammenvokste virvler, fusjoner:



Nedsatt mineralisering:



Platyspondyli:



Andre uregelmessigheter
(ikke vist)

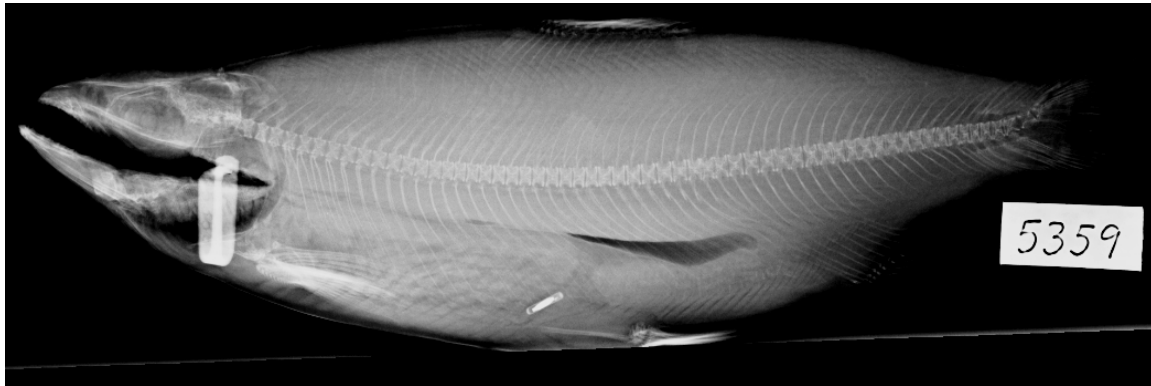
Av disse er det særlig platyspondyli som er av interesse under praktiske forhold. Dette er den type patologisk forandring som det er knyttet størst usikkerhet til mht. årsaker, og som har størst økonomisk betydning i dagens situasjon.

Følgende sammenhenger mellom fôrbehandling og platyspondyli kan trekkes ut av materialet:

1. Det var ingen fisk med platyspondyli i grupper som fikk kontrollfôr i både første og andre periode (startfôring til 20g). Det var antydninger til slike forandringer hos fisk som fikk kontrollfôr i første periode og LP-fôr i andre periode.
2. Det var innslag av platyspondyli hos fisk som fikk LP og LP-LZn-fôr i første periode, med en del ekstreme tilfeller (Figur 12).
3. Innslaget av platyspondyli i disse gruppene økte med økende belastning, dvs. dersom fisken fikk LP-fôr i andre periode og eventuelt også i sjø var skadene verre.
4. Fisk som fikk LP i sjø hadde dårlig mineraliserte virvler med store mellomrom. Hos noen av disse sto virvlene nær hverandre på en slik måte at seinere utvikling av platyspondyli var indisert (figur 13).
5. Det var et betydelig innslag av fisk med sammenvokste virvler og andre uregelmessigheter, også i grupper som hadde fått fôr K.

Figur 12.

Ekstremt tilfelle av platyspondyli. Denne fisken fikk LP-fôr fra startfôring til 20g, kontrollfôr i perioden fram til 60g (utsett i sjø) og kommersielt fôr fram til slakting etter 13 mnd i sjø.



Figur 13

Ryggvirvler fra fisk som har fått LP-fôr bare i sjøperioden (kommersielt fôr i ferskvann). Hos denne fisken er det tydelig nedsatt mineralisering av virvler, med store mellomrom. I deler av ryggstølen står virvlene unormalt tett, noe som tolkes som en mulig seinere utvikling av platyspondyli.



Oppsummering:

Resultatene viser en klar effekt av en marginal mangel på mineralene fosfor og sink i fôret på utvikling av deformiteter. Effekten er klart størst tidlig i livssyklus, i perioden fra startfôring og utover. Resultatene viser likevel også klare effekter seinere i livssyklus, og også en effekt av varighet, dvs. at effektene forsterkes med en lengre eksponeringsperiode.

De fôrene som er brukt i forsøket er forsøksfôr, som er spesialkomponert for formålet. Resultatene er derfor ikke direkte overførbare til kommersielle fôr. De er likevel basert på problemstillinger som er relevante i dagens oppdrett, og gir en klar pekepinn om at mineralforsyning i fôr er et område som vil kreve forsterket innsats i tida framover.

Sammenhengen mellom kjevedeformiteter og mineralmangel er entydig i dette materialet. På samme måte er det en klar sammenheng mellom haleknekk, som skyldes feilstilling av virvler i halerota, og fôr. Denne haledeformiteten er lett å registrere, og vil kunne være nyttig som diagnostisk hjelpemiddel.

De observerte ryggvirvelforandringene var omfattende, og av mange og ulike typer. Videre analyser forutsetter forbedret klassifisering av de ulike skadene. Det var klare indikasjoner i materialet som tyder på at mangelfull mineralisering av virvler er en medvirkende faktor for utvikling av platyspondyli hos stor laks. Denne effekten var til stede selv om eksponeringsperioden var så tidlig i fiskens live som startfôringsstadiet og fram til 20g. Selv om dette neppe er eneste aktuelle årsaksfaktor for utvikling av platyspondyli i sjøperioden, så er dette et konkret og viktig spor for videre arbeid med denne typen deformiteter.

En oppdatert versjon av denne rapporten vil bli utarbeidet så snart de endelige resultatanalysene foreligger. Denne analysen vil inkludere eventuelle effekter av produksjonstemperatur og genetisk disposisjon.

Publisering og presentasjon av resultater:

Publikasjoner

1. Helland, S., Refstie, S. Espmark, Å.M., Hjelde, K, Baeverfjord, G., 2005. Mineral balance and bone formation in fast-growing Atlantic salmon parr(*Salmo salar*) in response to dissolved metabolic carbon dioxide and restricted dietary phosphorus supply. Aquaculture, in press.

Planlagte publikasjoner:

2. Baeverfjord, G., Refstie, S., Hjelde, K., Helland, S. and Gjerde, B. Skeletal deformities induced by restricted dietary mineral supply in Atlantic salmon (title to be revised). Manuscript in preparation.
3. Refstie, S., Helland, S., Gjerde, B., Shearer, K.D., and Baeverfjord, G. Restricted dietary mineral supply in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) - Growth and mineral dynamics. Manuscript in preparation.
4. Helland, S., Refstie, S., Hjelde, K., and Baeverfjord, G. Morphological description of jaw and tail deformities caused by marginally low dietary phosphorus and zinc in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Manuscript in preparation.

Abstract

1. Baeverfjord, G., Wibe, Å. 2003. Vertebral deformities in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Causative factors in freshwater and development through the seawater stage. EAFP Conference on fish and shellfish diseases, Malta, 22-25 september.
2. Baeverfjord, G., Refstie, S., Helland, S. 2003. Reduced water quality and phosphorus deficiency in fast-growing Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)parr – Effects on mineral balance and bone formation. EAFP Conference on fish and shellfish diseases, Malta, 22-25 september.
3. Baeverfjord, G. 2004. Environmental and genetic basis of malformations in the salmonidae. "Hatchery Technologies", Profet Workshop, Bordeaux, 15. januar, 1s.
4. Helland, S., Refstie, S. & Baeverfjord, G. 2004. Misdannelser i rygg og kjeve hos laks - produksjonstemperatur og mineralisering har effekt på beinutvikling. NFR Programkonferanse, Havbruk 2004, Gardermoen, 23-24. mars.
5. Baeverfjord, G., 2005. Rearing conditions and deformities in Atlantic salmon. What have we learned so far. Bone disorder workshop May 10-11, NIFES, Bergen
6. Helland, S., Refstie, S., Hjelde, K., Baeverfjord, G., 2005. Morphological description of skeletal deformities in Atlantic salmon subject to restricted mineral supply. Bone disorder workshop May 10-11, NIFES, Bergen
7. Baeverfjord, G., Helland, S., Lein, I., Espmark, Å, Refstie, S., Åsgård, T. and Gjerde, B., 2005. Rearing conditions and skeletal deformities in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture Europe 2005 "Optimising the Future", Trondheim, 5-8 August.
8. Refstie, S., Helland, S., Gjerde, B., Shearer, K.D., Baeverfjord, G., 2005. Restricted dietary mineral supply in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) - I Growth and mineral dynamics. Aquaculture Europe 2005 "Optimising the Future", Trondheim, 5-8 August.
9. Helland, S., Refstie, S., Hjelde, K. and Baeverfjord, G., 2005. Restricted dietary mineral supply in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) - II Morphological description of skeletal deformities. Aquaculture Europe 2005 "Optimising the Future", Trondheim, 5-8 August.

10. Bæverfjord, G., Helland, S., Refstie, S., Hjelde, K. and Shearer, K.D., 2005. Skeletal deformities in response to restricted dietary mineral supply in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). 12th EAFP International Conference on Fish and Shellfish pathology, Copenhagen, 11-16 September.

Andre vitenskapelige presentasjoner

11. Bæverfjord, G., 2003. Deformiteter hos oppdrettsfisk, en statusrapport. "Fiskehelse og velferd - Effekter av temperatur, lys og fôr", Akvaveterinærenes etterutdanningskurs, Bodø, 11.mars.
12. Helland, S., 2005. Research within production related diseases. INRA/AKVAFORSK seminar, Paris, 15-16 February.
13. Bæverfjord, G., 2005. Vannkvalitet og deformiteter. Seminar "Vannkvalitet-smoltkvalitet", NIVA Oslo, 9. mars.
14. Bæverfjord, G. Rearing conditions and deformities in Atlantic salmon. What have we learned so far. LARVI workshop on fish deformities, Brussels, March 11.
15. Bæverfjord, G. 2005. Skadd på land – reduserte prestasjoner i sjø ? Nordisk Workshop "Teknologi på biologiens premisser", SINTEF Trondheim 22. juni

Brukerrettede foredrag

1. Bæverfjord, G., 2003. Misdannelser og deformiteter, status juni 2003. Fagmøte settefisk, FHL Havbruk, Trondheim, 12. juni.
2. Bæverfjord, G., 2003. Produksjonslidelser i settefiskanlegg. FHL Havbruk, Molde, 21. november.
3. Bæverfjord, G. 2003. Deformities in farmed fish. KEGO, Hellas, 28. november.
4. Bæverfjord, G., 2003. Deformiteter – nye interessante resultater. Mikroteket, EWOS, Hurtigruta Bodø-Svolvær 8. desember.
5. Bæverfjord, G. 2003. Deformiteter hos laksefisk. Juleseminar, Nordvest Fiskehelse Ålesund 10. desember.
6. Bæverfjord, G. 2003. Deformiteter hos laksefisk. Juleseminar, Nordvest Fiskehelse Kristiansund 11. desember.
7. Bæverfjord, G. 2004. "Misdannelser hos oppdrettsfisk – et sammensatt problem på veg mot nye løsninger". AKVAFORSK årsmøte, Spitsbergseter, 20-21. januar.
8. Bæverfjord, G. 2004. Misdannelser, hva vet vi i dag? Fagmøte, Fiskehelse BA, Valsøyfjord 2. juni.
9. Bæverfjord, G. 2004. Kontroll med misdannelser, et realistisk mål? Produktivitetskonferansen 2004, MonAqua, Kristiansund 1. november.
10. Bæverfjord, G. 2004. Kontroll med misdannelser, et realistisk mål? Fagmøte, Fjord Seafood. Brønnøysund 17. november.
11. Bæverfjord, G. 2004. Misdannelser i lakseproduksjonen. Fagmøte Firda Seafood, Gulen, 30. november.
12. Bæverfjord, G., 2005. Kunnskapsstatus om misdannelser hos laks. Fagmøte Follasmolt, Trondheim 12. januar.

Presseoppslag

"Monsterlaksen keiseren ikke får se". Dagbladet, 10. mai 2005.