

Aerob utholdenhetstrening for bedret hjertefunksjon og helse hos oppdrettslaks: oppfølging og videreutvikling av konseptet trening av fisk

TrenFisk2

Harald Takle, Vicente Castro, Barb Grisdale-Helland, Ståle Helland, Brit Tørud og Torstein Kristensen





Nofima er et næringsrettet forskningskonsern som sammen med akvakultur-, fiskeri- og matnæringen bygger kunnskap og løsninger som gir merverdi. Virksomheten er organisert i fire forretningsområder; Marin, Mat, Ingrediens og Marked, og har om lag 470 ansatte. Konsernet har hovedkontor i Tromsø og virksomhet i Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Averøy.

Hovedkontor Tromsø
Muninbakken 9–13
Postboks 6122
NO-9291 Tromsø
Tlf.: 77 62 90 00
Faks: 77 62 91 00
E-post: nofima@nofima.no

Internett: www.nofima.no



Vi driver forskning, utvikling, nyskaping og kunnskapsoverføring for den nasjonale og internasjonale fiskeri- og havbruksnæringa. Kjerneområdene er avl og genetikk, fôr og ernæring, fiskehelse, bærekraftig og effektiv produksjon samt fangst, slakting og primærprosessering.

Nofima Marin AS
Nofima Marin
Muninbakken 9–13
Postboks 6122
NO-9291 Tromsø
Tlf.: 77 62 90 00
Faks: 77 62 91 00
E-post: marin@nofima.no

Internett: www.nofima.no

Rapport

ISBN: 978-82-7251-738-9 (trykt)
 ISBN: 978-82-7251-739-6 (pdf)

Rapportnr.:
 1/2010

Tilgjengelighet:
Åpen

<p><i>Tittel:</i> Aerob utholdenhetstrening for bedret hjertefunksjon og helse hos oppdrettslaks: oppfølging og videreutvikling av konseptet trening av fisk</p>	<p><i>Dato:</i> 26.01.10</p>
<p><i>Forfatter(e):</i> Harald Takle, Vicente Castro, Barb Grisdale-Helland, Ståle Helland, Brit Tørud og Torstein Kristensen</p>	<p><i>Antall sider og bilag:</i> 46</p> <p><i>Prosjektleder.:</i> Harald Takle</p>
<p><i>Oppdragsgiver:</i> FHF</p>	<p><i>Oppdragsgivers ref.:</i> 900046</p>
<p><i>Tre stikkord:</i> Trening, Robusthet og helse, Atlantisk laks</p>	
<p><i>Sammendrag: (maks 200 ord)</i></p> <p>Hovedmålet til dette prosjektet var å bygge videre på konseptet med trening av fisk som del av det forebyggende helsearbeid i laksenæringen. Vi har tidligere vist at trening av laks før sjøutsett resulterer i bedre vekst og større sykdomsmotstand. Trening kan også styrke hjertekapasitet og sirkulasjonssystemet, bedre evne til å opprettholde homeostase under stressende situasjoner, samt bidra til bedre filétkvalitet. Prosjektet hadde seks konkrete delmål som alle har blitt utført i løpet av prosjektperioden. Et av hovedresultatene viste at trening bedrer sykdomsmotstanden ved å modulere immunsystemet på en fordelaktig måte ved å påvirke en rekke gener som er involvert i prosessering og presentasjon av antigen, regulering av interferon og komplement systemet, samt regulering av betennelsesreaksjoner, oksidativt stress og vevsremodellering. Videre fant vi at det var en god korrelasjon mellom treningsintensitet, genuttrykk og sykdomsmotstand. Analyser hos en kommersiell oppdretter førte til ny kunnskap om vannhastighet og -kvalitet i ulike typer kar. Prosjektet har også finansiert oppbygging av en fleksibel og innovativ fisketreningslab som vil være avgjørende for videre treningsforskning. Prosjektet har også ført til internasjonalisering av forskningsgruppen, samt at prosjektet har bidratt til å legge forholdene til rette for fremtidig kommersialisering av fisketrening.</p>	
<p><i>English summary: (maks 100 ord)</i></p> <p>The project was established to continue the promising concept of fish training to strengthen robustness and health of farmed fish. Previously, we have shown that training of salmon before sea transfer results in improved growth and disease resistance. The project had six specific tasks, which were all carried out during the project. One of the highlights was that we found a positive correlation between the intensity of training, gene expression of specific immune genes and disease resistance. We also did water quality analyses in a commercial plant, which will be important for know-how transfer of the training concept to the industry. Further, a flexible and innovative training centre was constructed and the project group created contact with international top researchers. Finally, the project has contributed to future commercialisation of fish training.</p>	

Innhold

1	Sammendrag	1
2	Bakgrunn	3
3	Prosjektbeskrivelse	9
	3.1 Hovedmål	9
	3.2 Delmål	9
4	Activity A*: Support the IPN challenge test data from TrenFisk 1 with molecular data	11
	4.1 Introduction	11
	4.2 Materials and Methods.....	11
	4.3 Results and Discussion.....	11
	4.4 Interferon, antigen processing and presentation	13
	4.5 Adhesion and chemokines	13
	4.6 Complement.....	13
	4.7 Inflammation.....	14
	4.8 Oxidative stress.....	15
	4.9 Detoxification.....	16
	4.10 Cell communication/differentiation and tissue remodelling	16
	4.11 Conclusion	16
5	Aktivitet B: Evaluere betydningen av strømhastighet ved å bruke gjennomstrømnings- og resirkanlegg som kommersiell modell	17
	5.1 Innledning.....	17
	5.2 Materialer og metoder	17
	5.2.1 Tredimensjonale strømmålinger	17
	5.2.2 Instrumentering.....	17
	5.2.3 Målinger.....	18
	5.2.4 Databehandling	20
	5.3 Resultater og diskusjon.....	21
	5.3.1 Vannhastighet.....	21
	5.3.2 Vannkjemisk dokumentasjon.....	23
	5.3.3 Fysiologisk dokumentasjon	24
	5.3.4 Produksjonsdata.....	27
	5.4 Konklusjoner	29
6	Aktivitet C: Styrke det faglig grunnlaget for en fremtidig kommersiell løsning for et nytt karsystem med tilhørende program for å trene laks fra yngel til smoltstadiet 31	
	6.1 Introduksjon.....	31
	6.2 Resultater og diskusjon.....	31
	6.3 Konklusjon.....	32
7	Aktivitet D: Invitere to fremragende internasjonale forskere med spesialkompetanse på fisketrening til Norge for kunnskaps-overføring til eksisterende FHF prosjekt og for å bidra inn mot NFR søknad til Havbruksprogrammet i juni 2008	33
	7.1 Resultater og diskusjon.....	33
8	Aktivitet E: Teste ut det kommersielle potensialet for et TrenFisk konsept på representanter fra settefisknæringen og prosjektgruppe	35
	8.1 Resultater og diskusjon.....	35

9	Aktivitet F: Avklare videre løp med kommersialisering av konseptet.....	37
9.1	Resultater og diskusjon.....	37
10	Formidling.....	39
10.1	Media (utdrag).....	39
10.2	Foredrag.....	39
10.3	Artikler.....	39
11	Økonomi.....	41
12	Referanser.....	43

1 Sammendrag

Hovedmålet til dette prosjektet var å bygge videre på konseptet med trening av fisk som del av det forebyggende helsearbeid i laksenæringen. Vi har tidligere vist at trening av laks før sjøutsett resulterer i bedre vekst og større sykdomsmotstand. Trening kan også styrke hjertekapasitet og sirkulasjonssystemet, bedre evne til å opprettholde homeostase under stressende situasjoner, samt bidra til bedre filétkvalitet. Prosjektet hadde seks konkrete delmål som alle har blitt utført i løpet av prosjektperioden.

Første mål var å underbygge resultat fra tidligere forsøk som har vist at trening bedrer sykdomsmotstanden hos fisken med molekylære analyser. Genekspresjonsanalyser ved bruk av mikromatriseteknologi viste at trening ved middels intensitet styrker immunkompetansen hos smolten. Trening påvirker en rekke gener som er involvert i prosessering og presentasjon av antigen, regulering av interferon og komplement systemet, samt regulering av betennelsesreaksjoner, oksidativt stress og vevsremodellering. Videre fant vi at det var en god korrelasjon mellom treningsintensitet, genuttrykk og sykdomsmotstand.

Det andre prosjektmålet var å evaluere og karakterisere betydningen av strømhastighet ved å sammenlikne kommersielle gjennomstrømnings- og resirkuleringskar. Resultatene viste at kardesign kanskje er vel så viktig som valg av gjennomstrømnings- eller resirkulerteknologi. Vi fant at sentralutløp gav mest homogen vannhastighet mellom målepunkter, mens store dødsoner med suboptimale hastigheter ble observert i alle kar med modifisert utløpsdesign.

Tredje mål for prosjektet var å utvikle bedre treningsfasiliteter for å styrke det faglige grunnlaget for fremtidig kommersiell løsning av kommersielle karsystem. Dette arbeidet resulterte i ett modifisert forsøksanlegg med mulighet til automatisk styring av kortere intervall, bruk av høyere vannhastighet i karene med mer homogen strømningsprofil, fleksibilitet i forhold til antall behandlinger og mulighet til å måle oksygenforbruk til fiskene under trening.

Det fjerde delmålet var å invitere to fremragende forskere med spesialkompetanse på fisketrening til Norge og dette ble utført i 2008. Besøket initierte forskningssamarbeid som nå pågår i NFR/FHF prosjektet FitnessFish.

Det femte prosjektmålet var å inkludere en referansegruppe fra næringen for å etablere en felles arena for utveksling av erfaring mellom forskere og næring. Referansegruppen har deltatt på ett fellesmøte og har i tillegg vært involvert gjennom epost-kontakt og uformelle møter ved andre tilstelninger. Tilbakemeldingene fra referansegruppen og spesielt FHL har vært svært viktig for prosjektgruppen.

Sjette prosjektmål var å avklare videre løp for prosjektgruppen med tanke på kommersialisering av konseptet fisketrening. Dette arbeidet har konkludert med at det på nåværende tidspunkt ikke er grunnlag for patentering eller kommersialisering. Likevel har prosjektgruppen underskrevet en omfattende konsortieavtale som omfatter regulering av rettigheter og forpliktelser som skal sikre at forskningsarbeidet både kan patenteres og kommersialiseres.

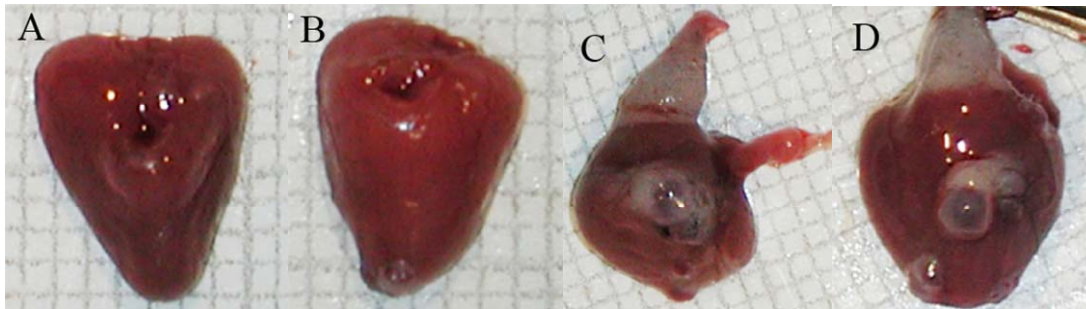
Konklusjonen fra prosjektet er at alle delmål har blitt nådd og at arbeidet har vært en nødvendig oppfølging av TrenFisk1 prosjektet. TrenFisk prosjektene dannet grunnlag for at NFR/FHF innvilget FitnessFish i 2009. I dette prosjektet har vi høsten 2009 gjennomført et vellykket forsøk basert på utviklingsarbeidet utført i TrenFisk2.

2 Bakgrunn

Oppdrettslaksens sedate liv med stort opptak av høyenergi fôr og lite bevegelse skiller seg radikalt fra det levesettet den fysiologisk er adaptert til gjennom millioner av år som villfisk. Dette levesettet ser ut til å resultere i livsstilssykdommer tilsvarende det en finner hos mennesker i den vestlige verden.

De siste 30 års intensivering og effektivisering av settefisknæringen har resultert i en stor økning i produksjonskapasitet på et ofte begrenset vannvolum. Tekniske tiltak som oksygenering, CO₂ lufting, temperaturstyring og lysstyring, samt økt tilvekst gjennom avlsmessig forbedring og høyenergifôr, har resultert i en situasjon med høy og hurtigvoksende biomasse i et karmiljø med lite fysiske utfordringer i form av strømhastighet. Strømhastigheten i kar har vært styrt av behovet for selvrensing og distribusjon av oksygen. Samlede data fra vannkvalitetsundersøkelsene i settefisknæringen (VK) fra 1999 til 2006 viser en gjennomsnittlig hydraulisk kapasitet på 13,8 (min: 1,88 max: 55,5) l vann/m³ karvolum/min, der variasjonen mellom anlegg er stor (Rosten et al., 2007). Strømhastighet ved den oppgitte vannutskiftningen blir i mange tilfeller lav, og avhengig av tekniske løsninger på vanninnløpet, vil også suboptimal justering av dette bidra ytterligere til senket vannstrøm i karene.

Den store dødeligheten etter sjøutsett representerer uten tvil en av de største utfordringene for lakseindustrien. De siste 5 årene har denne dødeligheten ligget på ca 20 %, og hjertefeil er en av faktorene som bidrar til den høye dødeligheten. Størst utslag har en fra dødelighet relatert til kardiomyopatisyndrom (CMS) (Brun et al., 2003), men også mer uspesifikk dødelighet er relatert til dårlig hjerte- og karfunksjon. Blant annet har hjertemisdannelser og forstyrrelser i sirkulasjonssystemet gjentatte ganger blitt påvist i forbindelse med dødelighet i lakseoppdrett (Hjerterapporten, 2004). Hjerterelatert dødelighet skjer vanligvis hos stor fisk før slakting og i sammenheng med ulike håndteringsprosedyrer som for eksempel ved sortering, transport og vaksinerings, samt ved suboptimale miljøbetingelser som høy vanntemperatur, lavt oksygeninnhold og ved algeoppblomstring. En rekke hjertemisdannelser og hjerterelaterte avvik har blitt beskrevet blant annet hypoplasi av det ytre kompaktlaget av ventrikkelen, avvikende ventrikkel morfologi, cyster på ventrikkelen og manglende skillevegg *septum transversum* mellom hjerte og bukhule (Baevefjord, 1998; Poppe et al., 1998; Poppe og Taksdal, 2000; Poppe et al., 2002; Poppe et al., 2003; Takle et al., 2005). Likevel er det mest vanlige og største problemet relatert til små runde hjerter (Brocklebank og Raverty, 2002; Hjerterapporten, 2004). Disse hjertene mangler sannsynligvis pumpeeffektiviteten til normale pyramideforma hjerter, og de er dermed assosiert med redusert hjertekapasitet og blodsirkulasjon. Redusert blodsirkulasjon fører til dårligere oksygenering av perifere organ, noe som kan gi ulike negative konsekvenser, for eksempel dårligere tilvekst og svakere immunforsvar og dermed en større risiko for flere og sterkere sykdomsutbrudd. Vintersår er et eksempel på et komplekst problem i laksenæringen som kan være relatert til redusert hjertekapasitet. Besparelsene vil derfor være formidable om vi kan produsere en mer robust laks med et sterkere hjerte. Trening av laks før sjøutsett fremstår som en god strategi for å produsere fisk med bedre hjertekapasitet og dermed styrka helse for å takle livet i sjø.



Figur 1 Eksempel på misdannede laksehjerter med cyster (Takle, Helland og Baeverfjord, Upubliserte resultat).

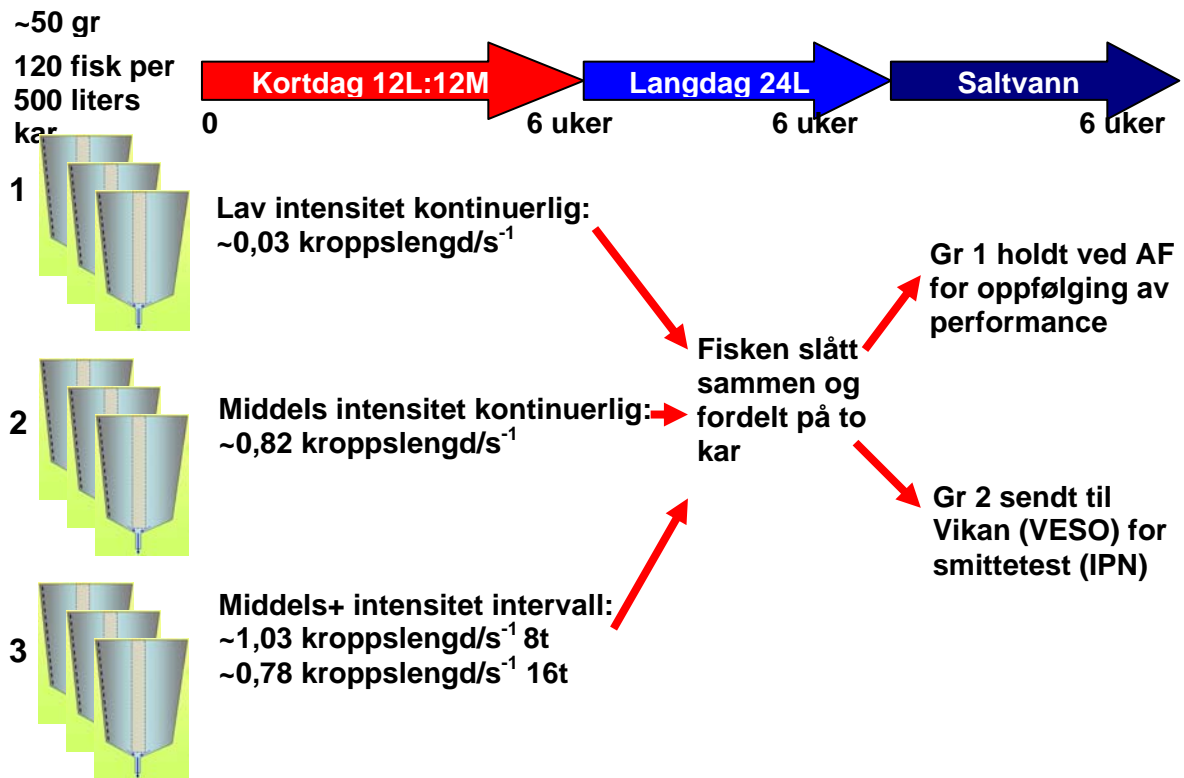
Negative effekter på hjerteutvikling som følge av forhøyede temperaturer og temperaturvariasjon på tidlige livsstadier er beskrevet (Gamperl og Farrell, 2004; Takle et al., 2006), og den genetiske komponenten av problemstillingen er påvist for CMS (Refstie et al., 1993). Det blir nå undersøkt om svømmeprestasjon kan brukes som test i avlsmål for bedret hjertefunksjon og sirkulasjon (NFR 174234/S40). Utover slike bakenforliggende årsaker, kan en del av årsakssammenhengen til avvik fra normal hjertefasong ligge i manglende stimulans i form av aktiv svømming hos fisk.

Det finnes mye litteratur som viser at trening av fisk har positive effekter på fysisk arbeidskapasitet, inkludert flere studier på laksefisk (for review se Jobling et al., 1993; Davison, 1997). I hovedsak ble denne forskningen utført på 80- og tidlig 90-tall og det har blitt konkludert med at langvarig lavintensitetstrening ved en hastighet på 1,5 kroppslengde/sekund eller mindre fører til gode resultater blant annet på vekst. Forbedringen av vekst er relatert til flere faktorer som bedre utnyttelse av føret, bedre appetitt, økt mengde veksthormon og redusert mengde stresshormon. Svømming hindrer også mye spontan aktivitet i forbindelse med opprettholdelse av dominans hierarki, noe som gir store energikostnader. Likens som hos pattedyr, har det blitt funnet positive korrelasjoner mellom trening og økt hjertekapasiteten hos fisk. Hos laksefisk fører aerob trening til en rekke endringer i det kardiovaskulære system, blant annet induseres hjertevekst (Hochachka, 1961; Farrell et al., 1990) og det fører til en økning av en rekke parametere som maksimalt slagvolum, aktiviteten til flere hjertespesifikke enzym, hematokrit, arterielt O₂ innhold, kapillarisering av skjellettmuskelatur og vevenes evne til O₂ ekstraksjon (Hochachka, 1961; Davie et al., 1986; Farrell et al., 1991; Gallagher et al., 2001). Tilsvarende har det blitt vist at ørret økte maksimalt O₂ opptak med 25 % etter en langvarig treningsperiode (Gallagher et al., 2001). Selv om alle disse forsøkene viser at trening har en positiv effekt på hjertekapasiteten så er de treningsinduserte endringene relativt små. Dette skyldes trolig flere omstendigheter, men en hovedårsak er trolig at det har vært lite fokus på treningsintensitet, frekvens og mengde.

Aerob intervalltrening med intensiteter på 85-95 % av maksimal hjertefrekvens har de siste årene vist seg å være en treningsform som har svært positiv effekt på hjertefunksjon og hjertemorfologi hos friske og hjertesyke mennesker (Rognmo et al., 2004; Helgerud et al., 2007). Sammenlignet med mer langvarig trening på lavere intensitet gir slik trening en betydelig tilleggseffekt i form av høyere cardiac output (CO) og dermed minuttvolum (MV) (Helgerud et al., 2007). Fiskens hjertefysiologi er svært sammenlignbar med pattedyrs og det er forventet at riktig trening vil kunne gi gode forbedring i kardiovaskulær kapasitet. I

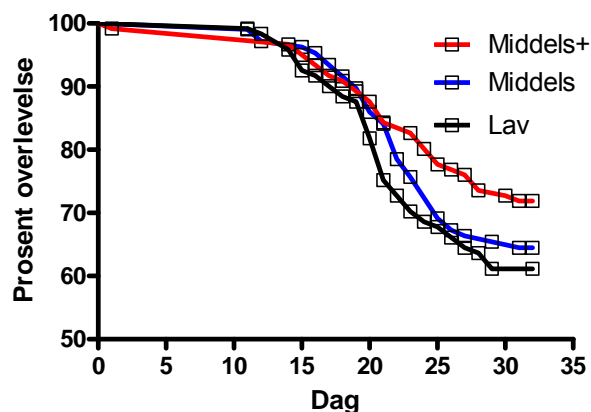
Trenfisk-prosjektet ble effekten av aerob utholdenhetstrening ved forskjellig intensitet undersøkt ved studier av hjertefunksjon, vekst og immunforsvar.

Treningen ble kort beskrevet gjennomført i 6 uker i kortdagsperioden som er en del av lysstyringen som bidrar til smoltifisering av laks.



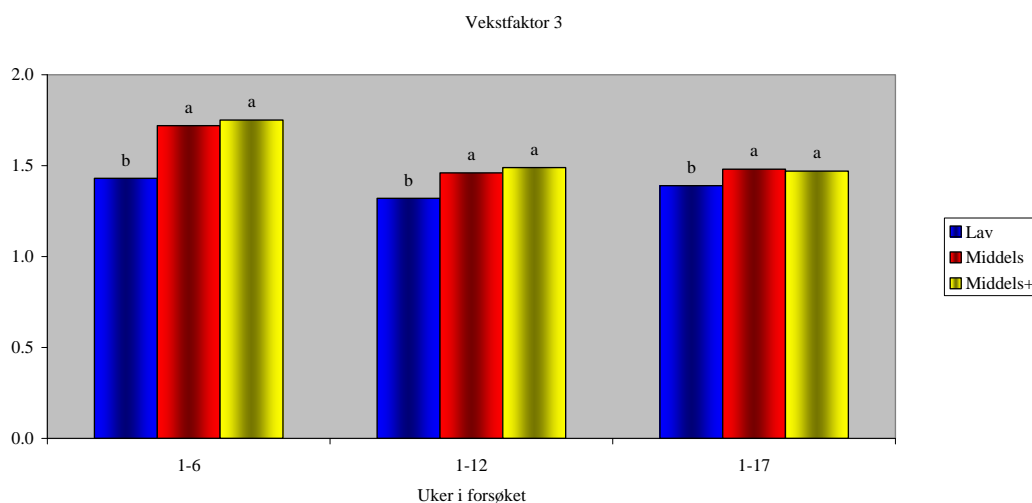
Figur 2 Oversikt over treningsforsøket.

Trening av laks i løpet av bare 6 uker i kortdagsperioden før smoltifisering viste svært lovende resultat som kan videreutvikles og gi en fremtidig overføringsverdi av stor betydning for næringen. Det mest lovende resultatet er at trent fisk viste bedre overlevelse (~72 %, $p=0.07$ (middels-høy) og ~64 % (middels)) når den ble utsatt for en IPN smittetest hos VESO sammenliknet med utrent fisk (~61 %) (Fig. 3). Det er videre interessant at det var så stor forskjell i overlevelse mellom de to treningsoppleggene.



Figur 3 Effekt av 6 ukers trening ved enten middels eller middels+ intensitet sammenliknet med utrent fisk etter en kohabitant IPN smittetest startet 7 uker etter endt trening.

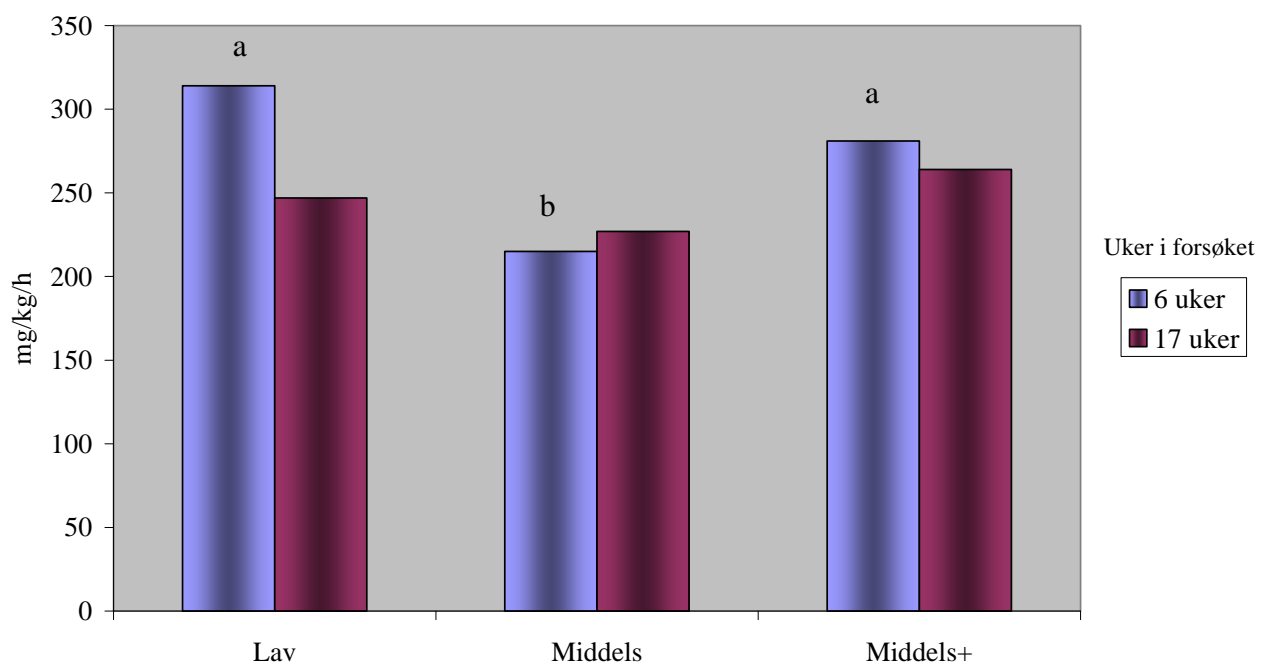
Trening hadde også en positiv effekt på vekstraten både under og etter treningsperioden (Fig. 4), men forutnyttelsen var ikke påvirket.



Figur 4 Effekt av 6 ukers trening på vekstrate målt ved avsluttet trening, 6 og 11 uker etter trening.

Den tredje betydningsfulle observasjonen fra forsøket var at trent fisk hadde økt sin evne til å økonomisere svømmingen. Dette ble vist ved at trent fisk forbrukket mindre oksygen når de ble testet i svømmerespirasjonskammer etter 6 uker med trening (Fig. 5).

Oksygenforbruk i svømmetestene rett etter og 11 uker etter treningsperioden



Figur 5 Forbruk av oksygen per kilo fisk per time for henholdsvis utrent og trent fisk umiddelbart etter trening (6 uker) og 11 uker etter trening (17 uker).

3 Prosjektbeskrivelse

TrenFisk 2 ble etablert for å følge opp det vellykka pilotforsøket med trening av laks som ble utført i FHF prosjektet TrenFisk. Prosjektet har hatt et tredelt fokus på henholdsvis å underbygge forsøksdata med molekylære analyser, videreutvikling av treningslabben på Sunndalsøra og feltundersøkelse hos Aakvik Settefisk for å kartlegge strømningsforhold og vannhastigheter i kommersiell produksjon.

3.1 Hovedmål

Videreutvikle og fremskaffe bedre grunnlag for å kommersialisere resultat fra FHF prosjekt 522014 (kortnavn: TrenFisk).

3.2 Delmål

- A) Underbygge resultat fra eksisterende forsøk med molekylære analyser
- B) Evaluere betydningen av strømhastighet ved å bruke gjennomstrømnings- og resirkuleringslegger som kommersiell modell
- C) Styrke det faglig grunnlaget for en fremtidig kommersiell løsning for et nytt karsystem med tilhørende program for å trene laks fra yngel til smolt stadiet.
- D) Invitere to fremragende internasjonale forskere med spesialkompetanse på fisketrening til Norge for kunnskapsoverføring til eksisterende FHF prosjekt og for å bidra inn mot NFR søknad til Havbruksprogrammet i juni 2008
- E) Teste ut det kommersielle potensialet for et TrenFisk konsept på representanter fra settefisknæringen og prosjektgruppen
- F) Avklare videre løp med kommersialisering av konseptet

4 Activity A*: Support the IPN challenge test data from TrenFisk 1 with molecular data

*In English since one of the authors does not speak Norwegian

4.1 Introduction

The effects exercise training has on the immune system of mammals, has been studied mainly by analyzing the circulating levels of cytokines (mainly TNF α , IL-1 β and IL-6) and immune cells (both concentration and activity) after different types of exercise (Pedersen et al., 1998; Shephard, 2000; Woods et al., 2000). Both, moderate and intense exercise, are related to an increase in lymphocytes, monocytes and NK cell activity, but only moderate-regular exercise seems to make this effect continuous in time with the consequent beneficial effects (Pedersen et al., 1998; Connolly et al., 2004). Even more, there is a common consensus that relative to an inactive state, moderate exercise improves the immune system reducing the incidence of infections, while intense and exhaustive exercise results in a short-term immunosuppression (Pedersen et al., 1998; Gleeson, 2000). Indeed, results from the challenge test showed a difference in survival between Medium and Medium+ trained fish, and between trained and untrained fish (Fig. 3). These results raised two important questions:

- 1) What is the underlying mechanism for improved survival of trained fish?
- 2) Why was there a great difference in survival between the Medium and Medium+ trained fish, considering that the difference in training regime was so modest?

4.2 Materials and Methods

To study the effects exercise training has on the immune system of teleosts, we used the Salmonid Fish Microarray (SFA2.0) platform containing 1800 unique cDNA clones to examine hearts sampled from 6 individual fish representing controls, Medium and Medium+ trained fish. The array was designed for studying immune-competence in salmonids. Gene composition and sequences of the platform can be found at GEO (GPL6154). The array results were confirmed for selected genes by qPCR, and we also included TNF α , IL-1 β and IL-6 due to their importance as markers for exercise training induced improvement of the immune system.

4.3 Results and Discussion

We identified several groups of function-related genes whose regulation in response to training might be involved in improving disease resistance in Atlantic salmon smolts (Fig. 6).

M+	M		M+	M	
UPS and Antigen processing			Adhesion and Traffic		
0.92	0.72	Ubiquitin specific proteinase 53	0.95	-0.60	CD18
0.69	-0.27	26S protease regulatory subunit 6B-2	0.92	-0.39	CD166
0.67	-0.23	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 14	0.89	0.17	Selectin L-like
-0.45	-0.03	Ubiquitin	0.83	-0.30	Fibronectin precursor
-0.69	0.20	Proteasome subunit alpha type 7-1	0.75	-0.21	CD97
-0.96	0.10	Ubiquitin ligase SIAH1	0.65	1.20	E-Selectin 1
-1.30	-0.21	Proteasome subunit alpha type 6	-0.50	0.21	CD231
-1.36	0.28	COP9 signalosome complex subunit 6	-0.61	0.05	IL-8 receptor
-1.58	0.39	Proteasome subunit alpha type 3	-0.80	0.03	CC chemokine SCYA110-2
-1.76	0.29	Ubiquitin-conjugating enzyme E2-18 kDa	-1.09	0.72	Chemokine receptor-1
Antigen Presentation			-1.11	-0.64	Leukocyte cell-derived chemotaxin 2
0.58	-0.40	Tapasin-2	-1.41	0.17	Fibronectin receptor beta
0.07	0.09	Tapasin-1	-1.55	0.64	CC chemokine CCL1
-1.05	-0.07	MHC class I heavy chain-like	Complement		
-1.75	0.54	MHC class I heavy chain-1	1.02	-0.02	Complement C3-1
-1.12	0.37	beta-2 microglobulin-1 BA1	1.07	-0.49	Complement factor D
Interferon			1.06	-0.23	C-type mannose-binding lectin
0.79	0.03	Double stranded RNA adenosine deaminase RED2	0.81	-0.52	Complement component C3-3-1
-0.62	-0.07	Interferon regulatory factor 4-1	0.77	-0.14	Complement component C7
-1.11	0.66	Interferon inducible protein 1	0.76	-0.21	C1rs-A protein
-1.22	0.14	Interferon regulatory factor 1-2	0.73	-0.06	Complement factor H-4
Inflammation regulators			0.69	-0.67	C type lectin receptor C
-0.69	-0.03	5-lipoxygenase activating protein	0.51	0.08	Complement component C6
-0.92	1.29	Prostaglandin endoperoxide synthase-2 (COX-2)	0.15	-0.50	Complement factor B/C2-B
-1.00	0.04	Adenosine deaminase 3	0.10	-0.79	Complement component C3-3-2
-1.25	0.41	CCAAT/enhancer binding protein delta	0.06	0.01	Complement component C9
-1.26	0.59	Adenosine kinase 2	-0.02	-0.19	Complement factor H-2
-1.35	-0.64	Cathepsin C-3	-0.17	0.13	Complement factor Bf-1
-1.63	0.51	Arachidonate 5-lipoxygenase-1	-0.38	0.07	Complement receptor 1-1
Oxidative stress			-0.80	-0.24	Serine protease-like protein-2
1.28	-0.72	Serum albumin precursor	Cell Communication/differentiation/ECM		
1.05	-0.11	Peroxiredoxin 1-1	1.48	-0.05	Latent TGF-beta binding protein-4
1.00	-0.30	Transaldolase	1.47	0.84	Lysyl oxidase homolog 3
0.90	-0.14	Thioredoxin-like protein p19 precursor	1.27	0.11	Carcinoembryonic cell adhesion molecule 1
0.75	0.58	Thioredoxin	1.17	-0.69	Forkhead box protein O3A
0.73	-0.21	Peroxiredoxin 2	1.14	-0.06	Notch 2
0.65	0.03	Thioredoxin-dependent peroxide reductase-2	1.08	0.68	Matrix metalloproteinase 17
0.60	0.05	Glutathione peroxidase 1	1.04	-0.24	Metalloproteinase CPX-1,
0.59	-0.05	Glutathione peroxidase 7	1.02	0.29	Tenascin
-0.42	0.14	Glutathione reductase, mitochondrial-2	1.01	1.22	Deltex protein 1
-0.91	0.07	[Mn]SOD, mitochondrial precursor	0.99	-0.13	Membrane-type matrix metalloproteinase 1alpha
Xenobiotics			0.93	-0.52	TGF-beta-inducible early growth response 1
1.28	-0.16	Aldehyde dehydrogenase 9 A1-2	0.91	-0.08	Midkine-related growth factor Mdk2
1.18	-0.22	Multidrug resistance protein 3-2	0.88	0.04	Periostin precursor
1.14	-0.20	UDP-glucuronosyltransferase 2B15	0.75	-0.15	Retinoic acid receptor responder 3-1
1.03	-0.14	Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator	0.74	0.07	Poliovirus receptor related protein 1 precursor
1.03	-0.26	Alanine-glyoxylate aminotransferase 2	0.61	-0.15	Latent transforming growth factor beta binding
0.76	0.45	3-mercaptopyruvate sulfurtransferase			
0.72	0.20	Epoxide hydrolase 1			
0.70	0.10	Aldehyde oxidase			
0.69	-0.26	UDP-glucuronosyltransferase 1-8			
-0.59	0.94	Cytochrome P450 3A27			
-1.34	-0.49	Metallothionein A			

Figure 6 Gene expression on selected functional classes from SFA 2.0 microarray. M = Medium intensity treatment (0.8 BL/sec). M+ = Medium plus intensity treatment (0.8 BL/sec 16 hours a day + 1.0 BL/sec for 8 hours a day). Data are log₂ expression ratios.

4.4 Interferon, antigen processing and presentation

In vertebrates, interferon stimulated genes (ISGs) are induced in response to viruses, and provokes a rapid and potent antiviral state in the host's cells (Ellis, 2001). Some ISGs are involved in antigen processing and presentation; key step for activating cell mediated immunity in response to viral infections. Processing is firstly mediated by the Ubiquitin-Proteasome System (UPS), while proteins related to the Endoplasmatic Reticulum are in charge of loading the antigens into MHC class I molecules for their presentation to CD8+ T-cells.

In this work, we found that exercise training of Atlantic salmon results in a downregulated transcription of genes involved in the antigen processing and presentation pathway in the Medium+ treatment, including UPS genes, e.g. the proteasomal constitutive α -subunits as well as some ubiquitination related genes, and the interferon stimulated MHC class I genes. This suggests that Medium+ trained fish has lowered their resting levels of antiviral response machinery. On the contrary, Medium treatment showed no significant responses for these functional classes.

When studying the effects of exercise on macrophage modulation Woods et al. (2000) observed an upregulation of several macrophage functions, while the antigen presenting activity linked to MHC class II proteins was reduced. This led him to suggest the possibility that exercise activates effector functions, while suppressing accessory cell functions. This hypothesis would be in agreement with some of our findings, as antigen presenting genes (UPS and MHC I related) were downregulated, but effector mechanisms like genes of the complement system (not shown) or direct antiviral genes like RED2 were upregulated.

4.5 Adhesion and chemokines

Our results showed a trend toward upregulation of several adhesion related genes in Medium+ trained fish. This suggests that the heart of trained Atlantic salmon has elevated numbers of immune cells ready to face potential infections several weeks post exercise, which gives trained fish an obvious advantage when compared to untrained fish.

Chemokines were downregulated in Medium+ trained fish. These genes code for molecules involved in stimulating and directing the migration and activation of immune cells into damaged tissues, hence playing a central role in inflammation (Janeway, 2008.).

4.6 Complement

The complement is an important part of the immune humoral-response arm and it consists of 3 pathways (classical, lectin and alternative). These helps to kill and clear pathogens mainly by amplifying the immune response, labeling for destruction (opsonization), and directly killing pathogens. Its components are present in plasma as inactive proteins and its activation is triggered by pathogen recognition. Complement acts as one of the first lines of host defence and is immediately ready to target and eliminate bacteria and viruses (Lachmann and Davies, 1997).

Complement genes were mainly upregulated in response to Medium+ training, suggesting that exercised fish has a proficient first line of defence and reinforcing the above mentioned idea of training activating effector functions.

4.7 Inflammation

There are many mammalian studies confirming the anti-inflammatory effects of exercise training at different levels, and the beneficial effects of it. This is important since systemic low-level inflammation is both the cause and consequence of pathological disorders (Bruunsgard, 2005), and exercise is known to reduce the levels of this (Pedersen et al., 2003).

The array used includes many genes directly and indirectly involved in the regulation of inflammatory pathways. The overall trend showed a stronger and more positive effect for the Medium+ treatment than for Medium trained fish. The following factors suggest a lower inflammatory level in the heart of Atlantic salmon in response to exercise on Medium+. 1) The above mentioned downregulation of UPS-related genes would have an effect on inflammatory pathways, due to the fundamental role of this system on the activation of the main inflammatory orchestrator NF- κ B (Santoro et al., 2003; Bhoj and Chen, 2009). In fact, several proteasome inhibitors have proven to be effective anti-inflammatory drugs, mainly by suppressing the activation of NF- κ B (Wang and Maldonado, 2006). 2) Downregulation of the transcription factor C/EBP. Members of the C/EBP family interact with members of the NF- κ B family (LeClair et al., 1992), suggesting a cooperative transcriptional regulatory mechanism, while it has been demonstrated that several pro-inflammatory cytokines are synergistically activated by C/EBP and NF- κ B members (Matsusaka et al., 1993). 3) Adenosine (ADO), which is normally released at sites of inflammation, has anti-inflammatory effects, including suppression of pro-inflammatory cytokine production, reduction in neutrophil degranulation, superoxide release and adhesion and reduction in collagenase production (Jarvis et al., 2002). Inhibition of the enzymes involved in adenosine metabolism as seen in this study. Adenosine deaminase (ADA) and specially Adenosine kinase (AK), have been shown to increase levels of ADO in sites of inflammation, further enhancing its anti-inflammatory properties (Boyle et al., 2001; Jarvis et al., 2002). 4) Downregulation of two of the main enzymes involved in eicosanoids production, COX-2 and Arachidonate 5-Lipoxygenase, agrees with a reduced inflammatory level.

Inflammation-causing exercise produces cytokine changes that parallel those generated during infection, sepsis or trauma in humans (Mathur et al., 2008). TNF- α induces IL-1 β , and both of these stimulate IL-6 production (Petersen, 2004). Downregulation of these inflammatory mediators was confirmed by qPCR with M+ having a stronger effect than M training (Fig. 7). This strongly suggests a decreased level of inflammation, which may account for part of the improved disease resistance during the IPN challenge test. TNF- α is one of the main modulators of pro-inflammatory responses, and it has been consistently shown that long-term training reduces systemic low-level inflammation in humans as well as enhancing immune function, infection resistance, and all-cause mortality protection above sedentary levels (Bruunsgard, 2005; Gleeson, 2007; Petersen et al., 2004). Moreover, training is an effective method to prevent undesirable inflammatory responses by reducing NF- κ B activation and hence downregulating the proinflammatory iNOS and COX-2

expression (Jimenez-Jimenez et al., 2008). Intriguingly, we found that COX-2 was downregulated in the Medium+ trained fish, while it was up-regulated in Medium trained fish. Altogether, our results suggest that the lower inflammatory level of Medium+ trained fish compared to Medium trained fish could be an important explanation for the improved survival of the former group in the IPN challenge test.

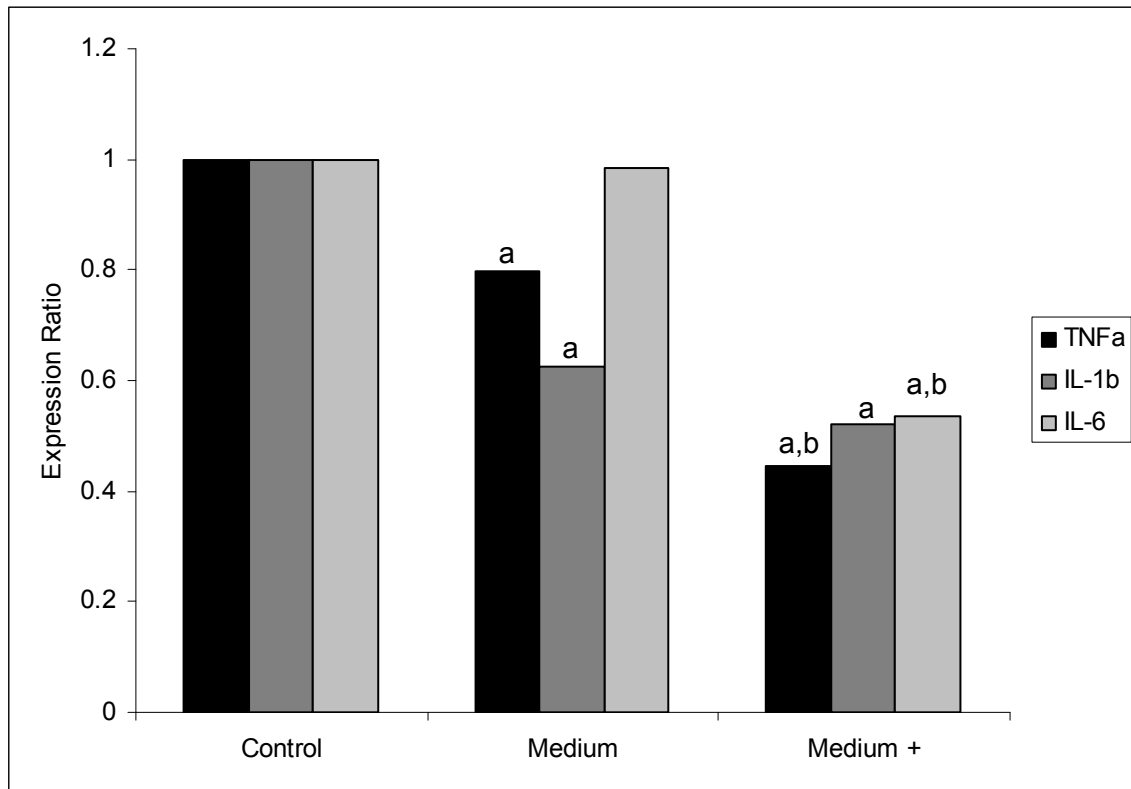


Figure 7 qPCR expression ratios of the three most studied cytokines involved in inflammatory responses. Ct values were normalized with 18S as reference gene.

4.8 Oxidative stress

Single bouts of acute and exhaustive physical exercise are known to increase the levels of oxidative stress due to the higher levels of oxygen required to satisfy the ATP needs, resulting in higher levels of ROS and tissue damage (Urso and Clarkson, 2003). On the other hand, its been widely suggested that moderate-regular training has the opposite effects, in species ranging from Atlantic salmon and Brown trout (Antilla et al., 2006, 2008) to mice (Navarro et al., 2003; Silva et al., 2009), rats (Itoh et al., 1998, Hollander et al., 2001), horses (Avellini et al., 1999) and humans (Dane et al., 2008; Kojda et al., 2005). This effect occurs most probably due to an induction of adaptive responses (Sachdev and Davies, 2008). Furthermore, Navarro et al., (2003) showed that, within other beneficial effects, moderate-regular exercise produces a decreased level of oxidative stress markers and an increased production of antioxidant enzymes with aging in the brain, heart, liver and kidney of rats.

The difference in health effects between acute-damaging and moderate-adaptive exercise is thought to be, among others, because the later leaves enough time to generate a response

based on altered gene expression (Kojda et al., 2005; Sachdev and Davies, 2008), while Fischer-Wellman and Bloomer (2009) state that it's certainly possible that exercise-increased ROS production at optimal levels improves health potentially by upregulation of antioxidant defences.

In this study, antioxidant genes were mainly upregulated in Medium+ trained fish, likely resulting in a better counteracting action of the damaging effects of exercise-induced ROS. This agrees with previous studies in salmonid and non-salmonid fish (Antilla et al., 2006, 2008), and suggests that training causes an increased pool of antioxidant enzymes in salmon, which may have a positive effect in terms of survival when faced with pathogenic infections. This could be in part due to suppression of the pro-inflammatory action of ROS (Conner et al., 1996).

4.9 Detoxification

With regards to genes involved in xenobiotics metabolism, the general upregulation observed in Medium+ was in contrast to the almost lack of regulation in the Medium trained fish. This suggests that Medium+ trained individuals had a better predisposition to respond to the toxic effects of different kinds of contaminants.

4.10 Cell communication/differentiation and tissue remodelling

Exercise-induced modulation of genes involved in regulation of cell differentiation, communication and extra cellular matrix suggests a better efficiency of trained fish in terms of tissue reparation and remodelling. Here again only Medium+ treatment showed a clear effect when compared with Medium trained fish.

4.11 Conclusion

In this work, we have shown that training Atlantic salmon for 6 weeks during the winter photoperiod affects gene expression level of smolts examined 6 weeks after finished training. Changes in several functional gene classes may be of importance for having more robust fish in terms of immuno-competence when transfer to sea water occurs. These include genes involved in antigen processing and presentation, interferon and complement system, inflammation regulators, oxidative stress, clearance and detoxification and tissue remodelling. Importantly, a slightly more intense Medium+ training treatment had stronger effects on basically all of the above functional classes than the medium intensity training. Hence, the gene expression analysis strongly supports the IPN challenge results and suggests that the immune-competence and disease resistance were improved for the Medium+ trained fish.

5 Aktivitet B: Evaluere betydningen av strømhastighet ved å bruke gjennomstrømnings- og resirkanlegg som kommersiell modell

5.1 Innledning

Hovedmålsettingen med aktivitet B var å utvikle metodikk og implementere teknologi og måleparametre fra TrenFisk1 prosjektet i kommersiell skala. Denne målsettingen må ses i sammenheng i at en ikke bare ønsker å kommunisere oppnådde resultater i labskala til næringen, men også bidra aktivt i implementering og dokumentasjon av forbedrede vannstrømsregimer i kommersiell skala. Aktiviteten ble inndelt i flere konkrete oppgaver:

- Tredimensjonale strømmålinger i kommersiell skala (NIVA)
- Vannkjemisk og fysiologisk dokumentasjon på gjennomstrømnings og resirkuleringskar (NIVA og Nofima Marin)
- Flowmålinger på de ulike karene og innsamling av produksjonsdata (Aakvik settefisk)

Det ble også gjort forsøk på å teste fisk fra de ulike gruppene i et svømmerespirasjonskammer, men dette lyktes ikke sannsynligvis på grunn av for kaldt vann i anlegget.

5.2 Materialer og metoder

5.2.1 Tredimensjonale strømmålinger

Det ble foretatt tredimensjonale strømmålinger med akustiske punktmålere (Nortek ADV Vector og Nortek miniADV) med 3 mottakere i 4 og 3 kar under normale produksjonsforhold ved Aakvik Settefisk hhv. september 2008 og mai 2009. Resultatene var sammenfallende mellom de to målepunktene. Målet med målingene var å finne ut forskjell i strømningssegenskaper mellom karene. Karene skilte seg ut i ytre dimensjoner (diameter og dybde) så vel som tekniske løsninger for vanntilførsel og avløp.

5.2.2 Instrumentering

Medbrakte instrument var en Nortek ADV Vector og to Nortek miniADV, derav en med rett stang og den andre med bøyet stang for tettere målinger mot grenseflate. Alle er akustiske punktmålere med 3 mottakere.



Figur 8 Vector (til v.) og ADV liknende (til h.).

Sensor på Vector var koblet til undervannsenhet med en kabel på 1m, mens sensorene på begge ADV var festet til en stang på ca 140cm lang. Disse instrumentene har meget ømfintlige sensorer og tåler ikke risting eller slag.

Egenskaper til Vector

Akustisk Frekvens	6	MHz
Måleområde	0-7	m/s
Målehastighet	0-64	Hz
Målevolum	15	Cm
Nøyaktighet	0,5 % ±1mm/s	% av måleverdi

Egenskaper til miniADV

Akustisk Frekvens	10	MHz
Måleområde	0-4	m/s
Målehastighet	0-25	Hz
Målevolum	5	Cm
Nøyaktighet	0,5 % ±1mm/s	% av måleverdi

Vector er utstyrt med kompass og tilt sensorer og kan dermed måle strøm i ENU retninger eller i sensorens koordinat system (XYZ system). Den siste bruker den ene mottaker som X retning. ADV er ikke utstyrt med verken kompass eller tilt sensorer og kan dermed bare gi hastigheter i XYZ koordinater.

Siden ADV ikke var utstyrt med kompass og tilt sensorer, begge instrument ble innstilt for å måle i sensorens XYZ koordinat system. Herved måtte målerens X retning være kjent til en hver tid. Den ble derfor satt til medstrøm retning, eller i meget stor grad parallell med a aksial hastighet. Dermed skulle Y og Z strømretningene tilsvare den radiale og den vertikale hastigheten.

Det var mange fisk i karene. Dermed er det forventet at mange enkelte målinger ikke vil bli pålitelige. Det er anslått at bare mellom 20 til 50 % av data vil kunne beholdes. Deretter kan man beregne en middelerdi med gjenstående målingene. Instrumentene ble altså satt opp for å måle så rask så mulig (64Hz for vector og 25Hz for ADV). Ut fra anslått forhold mellom gode og dårlige data, skulle man måle i minst 5 minutter i hvert punkt.

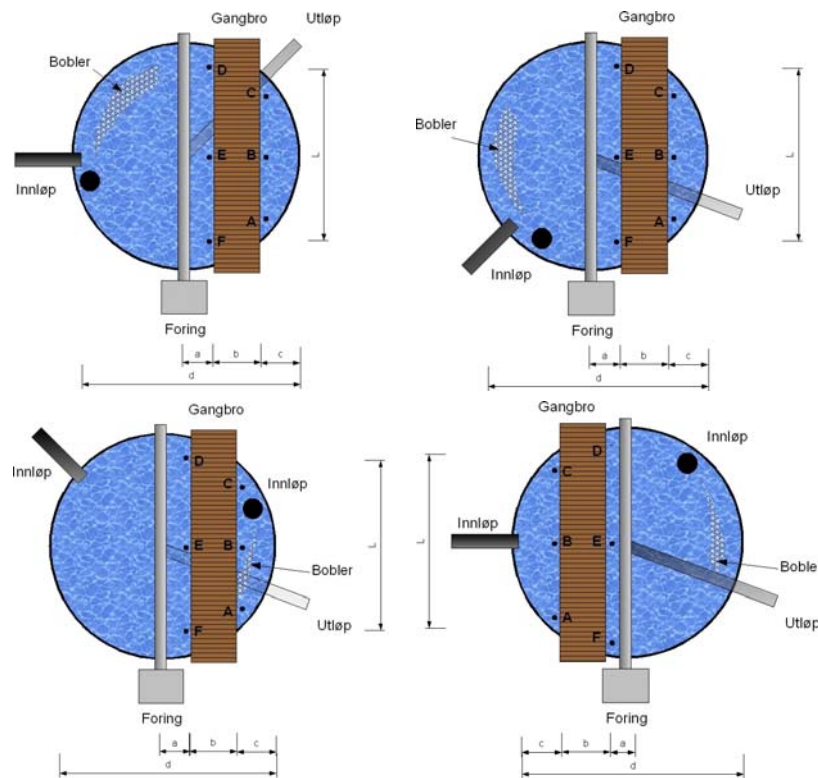
5.2.3 Målinger

Det ble valgt 3 punkter (A-F) på hver side av gangbro. Punktene A, C, D og F gir målinger ved utkant av karen. Punkt B gir en måling ved ca midradius i karen, og punkt E gir en måling i nærheten av senter. Parene A, F og C, D inneholder punkter som er veldig nær til hverandre. Derfor bare en måling i et punkt i hvert par er nødvendig.

I hvert målepunkt ble det tatt målinger i 3 dybder: under overflate, ved ca midtdybde og nærere bunn. Den siste ble høyere over bunn i karene 5, 6, og 10 for å unngå å komme bort til noe i nærheten av bunn, men også for å unngå akustiske refleksjoner fra bunn. Dette ble begrunnet etter observert støy ved noen målinger utført i Kar 5. Utvalgte dybder ble altså: 20cm, 100cm og 150cm.

Orientering av X mottaker på målerne med strømretning ble ikke så enkel. Dessverre var det ikke alltid mulig å både kunne feste instrument langs gangbro og oppnå ønsket retning samtidig. Dette ble særlig tilfelle ved øverste målingene. For samme grunn ble ikke z måleretning rettet nøyaktig langs vertikal. Dette betyr at dataanalyse vil bli utført hovedsakelig på hovedstrømsamplitude og dets turbulente del.

Av de 3 medbrakte instrumentene, ble det brukt både Vector og ADV med rett stang. De ble plassert i hver sin kar for å kunne utføre målingene i 2 kar samtidig. Det ble laget en ny fil for hvert målepunkt. Hver måling ble utført i ca 5 minutter, bortsett når det måtte flytes den andre instrument. Da tok det nok minst 10 minutter. Vector ble brukt i kar 2 og 6, ADV ble brukt i kar 5 og 10.



Figur 9 Kardesign og utvalgte målepunkter. Kar 2: (opp til v) Gjennomstrømningskar. Utløp gjennom en rør ved ca midtdybde fra sentrum til karensperiferi. Kar 5: Resirkuleringskar. Utløp på samme måte som i Kar 2. Kar 6: Resirkuleringskar. Utløp gikk fra sentrum under karet. Kar 10: Resirkuleringskar. Utløp gikk på samme måte som i Kar 2.

5.2.4 Databehandling

Rådata fra behandlet med meget strenge filtreringskrav. Dette var nødvendig for å fjerne mest mulig støy forårsaket fra fisk og luft bobler. I første trinn ble det brukt en *threshold filter* på følgende parametere:

- *Hastighet*: mindre enn 100cm/s som er instrument maksimal måleverdi i dette tilfelle;
- *Signal støy verdi*: større enn 15, selv om anbefalte verdi fra produsenten er 5;
- *Korrelasjon*: større enn 80 som er produsentens anbefaling;

Deretter ble det brukt acceleration filter og cross-correlation filter mellom hastighet og signal amplitude for å fjerne noe av støy forårsaket fra fisk. Siste trinn var anvendelse av en phase-space filter.

5.3 Resultater og diskusjon

5.3.1 Vannhastighet

Middelstrøm er beregnet fra filtrert data for hvert målepunkt. Middelerdi for hver kar er vist i Tabell 1. Det bemerkes at hastighet for vann tilførsel ikke var kjent da målingene ble foretatt. Derfor må en ta høyde på at strømvariasjonene også kan skyldes innløpshastighet. Disse verdiene stemmer godt med observasjonene som ble utført under målingene.

Da vann beveger seg hovedsakkelig i sirkel, er middelstrøm en funksjon av avstand mellom målepunkt og kar senter. Derfor viser Tabell 1 og Figur 10 også middelerdi for virvel hastighet som burde gi cirka samme verdi i hvert målepunkt. Denne er mest konstant i Kar 2, Kar 5 og Kar 10. I Kar 6 skiller seg posisjon E ved at beregnet verdi er høyere enn i andre målepunkt i samme kar. Dersom det ikke varierte mye mellom de forskjellige kar, så er strøm i Kar 6 langt høyere enn i de andre. Dette er også stedet der det ble valgt å ha utløpsrør under kar. Kar 2 viser en stor variasjon med dybde i posisjon A og D. Støy effekt fra innløpsbobler kan være årsaken for dette i posisjon D. Kar 5, posisjon A viser en større variasjon med dybde. Den kan skyldes utløpsrør som krysser kar på tvers rett før måleprofil. Samme observasjon gjelder Kar 6, posisjon F. I dette tilfelle kan det skyldes støy fra innløpsbobler.

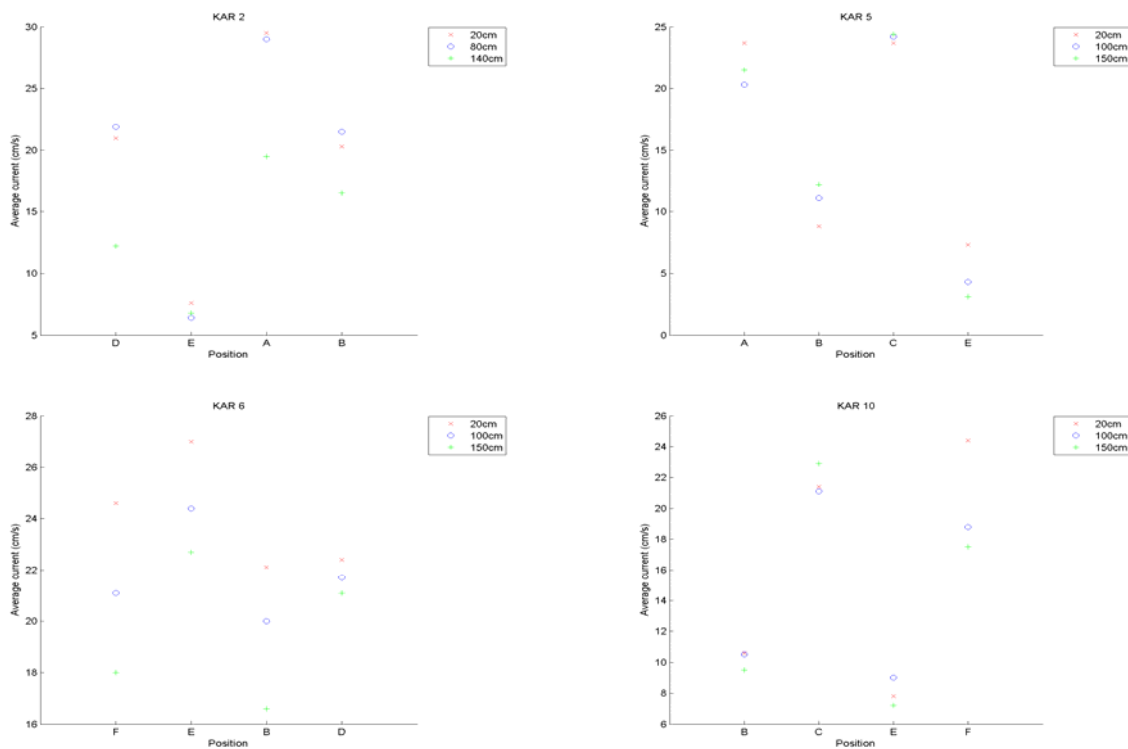
Turbulent hastighet ble beregnet ut fra filtrert data og middelerdi for strøm. Resultater er vist i Tabell 1. Den er hovedsakkelig lik for hver kar. Høyere verdi for Kar 2 skyldes målinger i posisjon D ved 140cm. Dette målepunkt er allerede blitt utpekt for å være tvilsom.

Tabell 1 Strømhastighet i hvert målepunkt for Kar 2, 5, 6 og 10.

Kar	Pos	Dybde	V	V_{rms}	V_{θ}	Kar	Pos	Dybde	V	V_{rms}	V_{θ}
2	D	20	21.0	5.5	0.070	5	A	20	23.7	4.4	0.079
2	D	80	21.9	7.3	0.073	5	A	100	20.3	6.3	0.068
2	D	140	12.2	23.9	0.041	5	A	150	21.5	4.9	0.072
2	E	20	7.6	4.2	0.087	5	B	20	8.8	2.9	0.044
2	E	80	6.4	5.3	0.073	5	B	100	11.1	3.6	0.056
2	E	140	6.8	5.0	0.077	5	B	150	12.2	5.6	0.062
2	A	20	29.5	4.9	0.098	5	C	20	23.7	5.5	0.079
2	A	80	29.0	6.3	0.097	5	C	100	24.2	6.3	0.081
2	A	140	19.5	12.0	0.065	5	C	150	24.4	7.5	0.081
2	B	20	20.3	5.2	0.102	5	E	20	7.3	2.6	0.083
2	B	80	21.5	6.5	0.109	5	E	200	4.3	4.3	0.049
2	B	140	16.5	12.0	0.083	5	E	150	3.1	5.5	0.035
2			17.7	8.2	0.082	5			15.4	5.0	0.066

Kar	Pos	Dybde	V	V_{rms}	V_{θ}	Kar	Pos	Dybde	V	V_{rms}	V_{θ}
6	F	20	24.6	6.2	0.061	10	B	20	10.6	2.5	0.085
6	F	100	21.1	6.7	0.052	10	B	100	10.5	3.4	0.084
6	F	150	18.0	7.0	0.045	10	B	150	9.5	4.8	0.076
6	E	20	27.0	3.5	0.490	10	C	20	21.4	3.5	0.052
6	E	100	24.4	5.7	0.444	10	C	100	21.1	4.6	0.051
6	E	150	22.7	5.6	0.412	10	C	150	22.9	5.5	0.055
6	B	20	22.1	2.5	0.177	10	E	20	7.8	3.0	0.141
6	B	100	20.0	4.5	0.160	10	E	100	9.0	4.1	0.163
6	B	150	16.6	5.8	0.133	10	E	150	7.2	5.3	0.131
6	D	20	22.4	4.5	0.056	10	F	20	24.4	5.2	0.061
6	D	100	21.7	4.4	0.054	10	F	100	18.8	6.4	0.047
6	D	150	21.1	5.3	0.052	10	F	150	17.5	4.9	0.043
6			21.8	5.1	0.178	10			15.1	4.4	0.066

V er middelverdi i cm/s, V_{rms} er turbulent hastighet i cm/s og V_{θ} er virvel hastighet i s^{-1} .



Figur 10 Gjennomsnittlig vannhastighet i 4 dybdetranssektorer i oppdrettskar med ulike utløpsdesign.

Oppnådde måleresultater vurderes som gode, og relativt store forskjeller mellom ulike kardesign er dokumentert (Figur 10). Det var klart større forskjeller mellom ulike målepunkter enn mellom ulike dyp innen samme målepunkt (Figur 10). Kar 6, med sentralutløp ga tydelig mest homogen vannhastighet mellom målepunkter, mens store dødsoner med suboptimale hastigheter ble observert i alle kar med modifisert utløpsdesign. Instrumentering og angrepsmåte har gitt et godt grunnlag for dokumentasjon av strømforhold i kommersiell skala, optimalisering av strømhastighet basert på resultater fra gjennomførte og planlagte aktiviteter i FHF og NFR finansierte prosjekter på temaet.

5.3.2 Vannkjemisk dokumentasjon

Råvannskvaliteten ved Aakvik settefisk er gjennomgående god, og kvaliteten oppnås gjennom kalking av vannkilden. PH, kalsium og bufferkapasitet er derfor høy i avløpsvann fra kar 2 på begge tidspunkt (Tabell 2 og 3). Lavere pH, høyere total ammonium nitrogen og beregnet CO₂ på 1. prøvetakingstidspunkt indikerer en lagt lavere spesifikk vannutskiftning (høyere produksjonsintensitet) på dette tidspunktet. Total ammonium nitrogen var lå i september 2008 blant de 25 % høyeste målingene i NIVAs vannkvalitets-database, mens mai 2009 målingene lå under gjennomsnittet (Kristensen et al., 2009)

For resirkuleringskarene er den spesifikke vannutskiftningen, målt som total-nitrogen konsentrasjon i vannet, relativt lik på de to prøvetakingstidspunktene (Tabell 2 og 3). Det er imidlertid langt høyere total ammonium nitrogen og nitritt verdier i september 2008. Dette indikerer dårlig biofilterfunksjon på dette tidspunktet. Verdiene er langt bedre i mai 2009. Den

høyere ledningsevnen i resirkuleringskarene i september 2008 kan tyde på at saltbehandling har vært gjennomført for å redusere giftigheten av nitritt. Alkalinitet i alle resirkuleringskar er lavere enn anbefalte verdier (Fjellheim m. fl 2010).

Samlet sett viser målingene en variabel spesifikk vannutskiftningsrate i gjennomstrømmingskaret, der de høyest målte verdiene er vist gjennom forsøk å negativ effekt på vekst og immunforsvar. For resirkulasjonskarene var det stor variasjon i biofiltereffektiviteten mellom de to prøvetakingstidspunktene, og trolig suboptimal vannkvalitet i september 2008.

5.3.3 Fysiologisk dokumentasjon

Fisk fra to resirkuleringskar (kar 5 og 6) ble prøvetatt (n=5) i forbindelse med strømmålinger og svømmerespirometri i mai 2009. Helblod ble analysert på en I-stat analysator for en rekke sentrale blodparametre for ionebalanse, syre-base balanse og stress (Tabell 4). Ingen signifikant forskjell ble funnet mellom de to karene, og resultatene er derfor slått sammen i den videre databehandlingen. Verdiene er sammenlignet med NIVAs database for fysiologiske målinger, som i hovedsak stammer fra fisk produsert i gjennomstrømmingsanlegg.

Tabell 2 Analyserte og beregnede (*) parametre i karvann tatt fra utløp av 3 kar ved Aakvik settefisk, september 2008.

Prøvenr			Kar 2*	Kar 5*	Kar 6*	Kar 10*
Analysevariabel	Enhet	Metode	Sept. 08	Sept. 08	Sept. 08	Sept. 08
Surhetsgrad	pH	A 1	6,38	6,96	6,95	6,85
Konduktivitet	mS/m	A 2	6,17	29,01	29,36	31,37
Alkalitet	mmol/l	C 1	0,218	0,553	0,557	0,495
Turbiditet v/ 860 nm	FNU	A 4-2	2,87	2,02	2,03	5,19
Nitrogen, total	µg N/l	D 6-1	1990	5450	5620	5220
Ammonium	µg N/ l	C 4-3	1450	1350	1400	1750
Nitrit	ug N/l	D 4	<1	193	169	294
Nitrat	µg N/l	C 4-3	6	3600	3700	2400
NH3*	µg/l		0,56	2,0	2,0	2,0
Karbon, organisk	mg C/l	G 4-2	7,1	6,8	6,9	8,7
Klorid	mg/l	C 4-3	9,30	58,5	59,5	68,9
Sulfat	mg/l	C 4-3	1,94	2,5	2,6	2,6
Karbondioksyd, fritt	mg/l Intern*	C 8	15	13	12	14
Aluminium	mg/l	E 9-5	0,053	0,048	0,051	0,053
Aluminium, reaktivt	µg/l	E 3-2	23	30	25	23
Aluminium, ikke labil	µg/	I E 3-2	<5	10	<5	<5
Aluminium, labil*	µg/l		18	20	20	18
Kalsium	mg/l	C 4-3	1,76	15,7	15,8	13,7
Jern	mg/l	E 9-5	0,0651	0,0410	0,0453	0,0470
Kalium	mg/l	C 4-3	0,35	1,1	1,1	1,0
Magnesium	mg/l	C 4-3	0,63	1,0	1	1,0
Natrium	mg/ l	C 4-3	4,25	36,4	36,8	43,3

*Kar 2 er gjennomstrømningskar, mens kar 5, 6 og 10 er resirkuleringskar.

Tabell 3 Analyserte og beregnede (*) parametre i karvann tatt fra utløp av 3 kar ved Aakvik settefisk, mai 2009.

Prøvenr Analysevariabel	Enhet	Metode	Kar 2* Mai 09	Kar 5* Mai 09	Kar 6* Mai 09
Surhetsgrad	pH	A 1-4	6,79	6,86	6,93
Konduktivitet	mS/m	A 2-3	5,30	12,4	12,7
Alkalitet	mmol/l	C 1	0,196	0,436	0,442
Turbiditet v/ 860 nm	FNU	A 4-2	0,43	0,81	0,89
Nitrogen, total	µg N/l	D 6-1	495	5060	5060
Ammonium	µg N/l	C 4-3	190	900	900
Nitrit	ug N/l	D 4	2	17	20
Nitrat	µg N/l	C 4-3	22	4200	4300
NH3*	µg/l		0,19	1,1	1,2
Karbon, organisk	mg C/l	G 4-2	4,0	5,7	6,1
Klorid	mg/l	C 4-3	8,89	12,8	12,9
Sulfat	mg/l	C 4-3	1,61	2,81	2,85
Karbondioksyd, fritt	mg/l Intern*	C 8	4,4	15	13
Aluminium	mg/l	E 9-5	0,076	0,054	0,054
Aluminium, reaktivt	µg/l	E 3-2	26	16	12
Aluminium, ikke labil	µg/l	E 3-2	22	10	8
Aluminium, labil*	µg/l		4	6	4
Kalsium	mg/l	C 4-3	2,54	12,5	12,8
Kobber	mg/l	E 9-5	<0,002	<0,002	0,0084
Jern	mg/l	E 9-5	0,0783	0,0366	0,0361
Kalium	mg/l	C 4-3	0,28	0,94	0,96
Magnesium	mg/l	C 4-3	0,78	0,96	0,99
Mangan	mg/l	E 9-5	0,0040	0,0047	0,0055
Natrium	mg/l	C 4-3	5,17	7,35	7,51

*Kar 2 er gjennomstrømningskar, mens kar 5 og 6 er resirkuleringskar

Tabell 4 Fysiologiske blodparametre i fisk fra resirkuleringskar ved Aakvik settefisk (n=10) sammenlignet med normalverdier observert i fisk i gjennomstrømningskar (n≈850).

Parameter	Normalverdier	Aakvik settefisk
Na (mmol/l)	149,9 ± 5,2	126,3 ± 7,3
K (mmol/l)	3,9 ± 1,1	3,5 ± 0,8
Cl (mmol/l)	136,7 ± 3,7	136,0 ± 6,2
Glukose (mmol/l)	5,3 ± 1,7	9,7 ± 3,5
Hematokrit (%)	30,0 ± 4,3	28,1 ± 5,9
pH	7,180 ± 0,155	7,190 ± 0,054
PCO2 (mmHg)	7,8 ± 1,6	14,8 ± 1,3
HCO3 (mmol/l)	3,2 ± 1,5	5,6 ± 0,6

Verdier er angitt som gjennomsnitt ± standardavvik

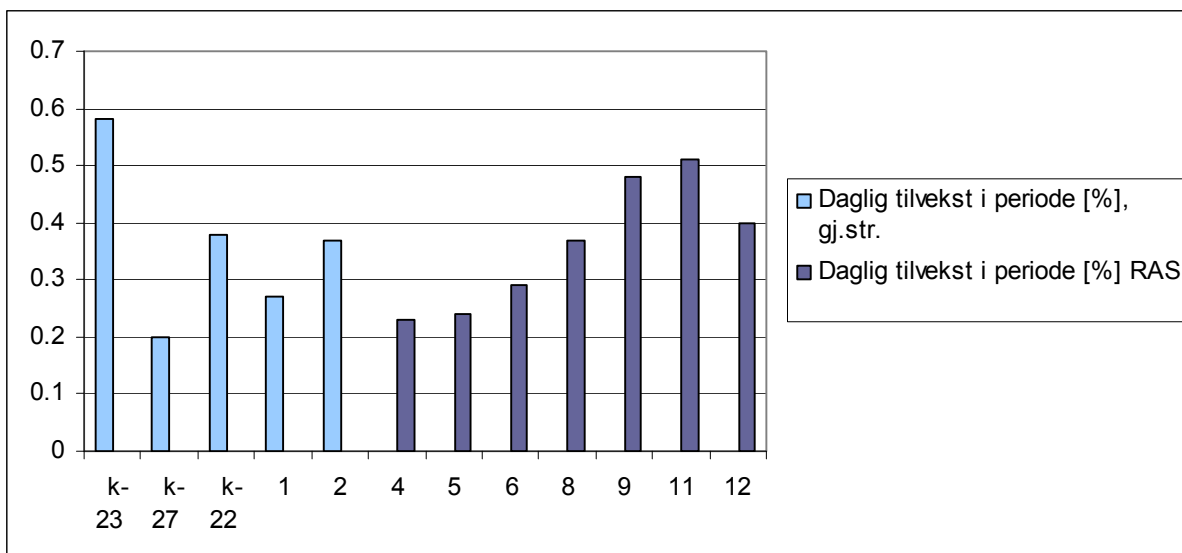
Av hovedionene var det natrium som utpekte seg som avvikende fra normalt observerte verdier. Fenomenet med tidvis redusert natrium i RAS produksjon er tidligere observert på regnbueørret (Rosseland m.fl, upubliserte data), men det finnes pr i dag ingen mekanistisk forklaring på disse observasjonene. Normalt utligner frie aminosyrer eller andre lavmolekylære organiske forbindelser ladningsforskjellen, det såkalte Anion Gap, mellom positive og negative hovedioner (normalt +15-20 mmol). Om det skjer en reduksjon av disse som kompensasjon for lav natrium under RAS produksjon, eller om andre positivt ladde molekyler gir ladningsbalanse med normalt Anion gap er uavklart.

Blodsukkerkonsentrasjon påvirkes av adrenalin-stimulert nedbrytning av glykogenlagre, hovedsakelig i lever. Glukose verdier over 7-8 mmol/l regnes som høyt, og kan indikere en stresspåvirket fysiologi. Glukose påvirkes også av fôropptak og generell metabolisme, men er vanligvis regulert innefor et relativt lite konsentrasjonsintervall. Avvikende verdier i sammenheng med for eksempel metalleksponering følges vanligvis av ionetap (f.eks. Kroglund m.fl, 2007). Dette ser ikke ut til å være tilfelle her, og RAS produksjon kan også tenkes å ha metabolske effekter som påvirker blodsukkerstatus. Svømmehastighet kan også påvirke blodsukkerstatus, men foreløpige resultater i FitnessFish prosjektet i 2009 gir ingen indikasjon på økt glukosenivå hos fisk ved kronisk eller periodevis høye svømmehastigheter (Takle m.fl, upubliserte data)

Det var ingen merkbare forskjeller i fysiologiske parametre mellom fisk produsert i homogene strømforhold (20-27 cm/sek, kar 6) og mer variable strømforhold (4-25 cm/sek, kar 5). Det er svært sannsynlig at den avvikende ionesammensetningen i begge kar er relatert til produksjonsforhold/vannkjemi knyttet til resirkuleringsteknologien. På prøvetakingstidspunktet synes vannkjemien å ha vært tilfredsstillende med tanke på kjente grenseverdier for flere parametre. Likevel er glukoseverdiene forhøyet, noe som kan indikere stress, og ionebalansen ulik det som observeres i gjennomstrømningsanlegg. Forhøyet pCO₂ og HCO₃⁻ er en konsekvens av CO₂ verdiene i vannet (hhv. 15 og 13 for kar 5 og 6) Karlson, 2009.

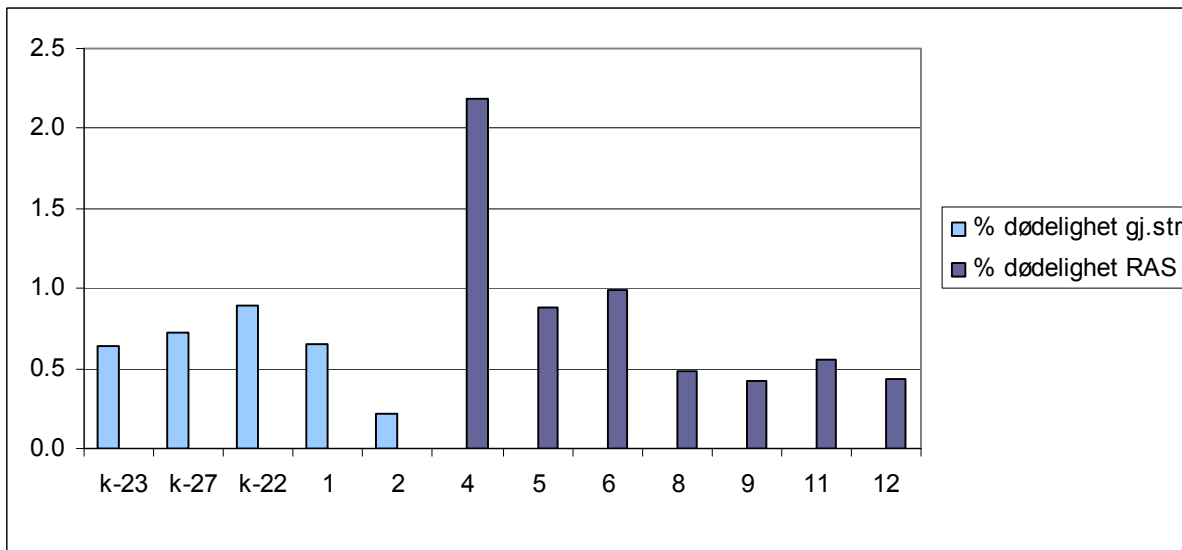
5.3.4 Produksjonsdata

I prosjektperioden ble det samlet inn og systematisert produksjonsdata med tanke på å se på effekten av ulike driftsformer, inkludert målinger av vannutskiftingsrater i karene. Vannutskiftingsraten var sammenlignbar i karene, men vanskelig å holde konstant på grunn av felles ringledning der justeringer på karnivå medfører endringer også i andre kar. Dette er en vanlig design i norsk settefisknæring, som kan vanskeliggjøre optimal justering uten omfattende ombygginger. Første del av prosjektperioden var preget av problemer med optimal funksjon av biofilter i RAS karene, IPN utbrudd og påfølgende justeringer og omfordeling av fisk. I siste del av perioden ser driftsforholdene ut til å ha bedret seg betydelig. På grunn av kompleksiteten i produksjonen, og spesielt driftsmessige tiltak som ble gjort av de ovenfornevnte årsaker, er det vanskelig å sammenligne fiskens prestasjon i de ulike karene som "rene" grupper. Dette er en situasjon som ofte inntreffer ved denne typen kommersiell-skala dokumentasjonsforsøk, og som kan vanskeliggjøre tolking av data.



Figur 11 Daglig tilvekst (%) etter vaksinerings fram til utsett vinter 2009. Kar 2,5 og 6 er kar som ble fulgt opp gjennom Trenlaks 2 prosjektet.

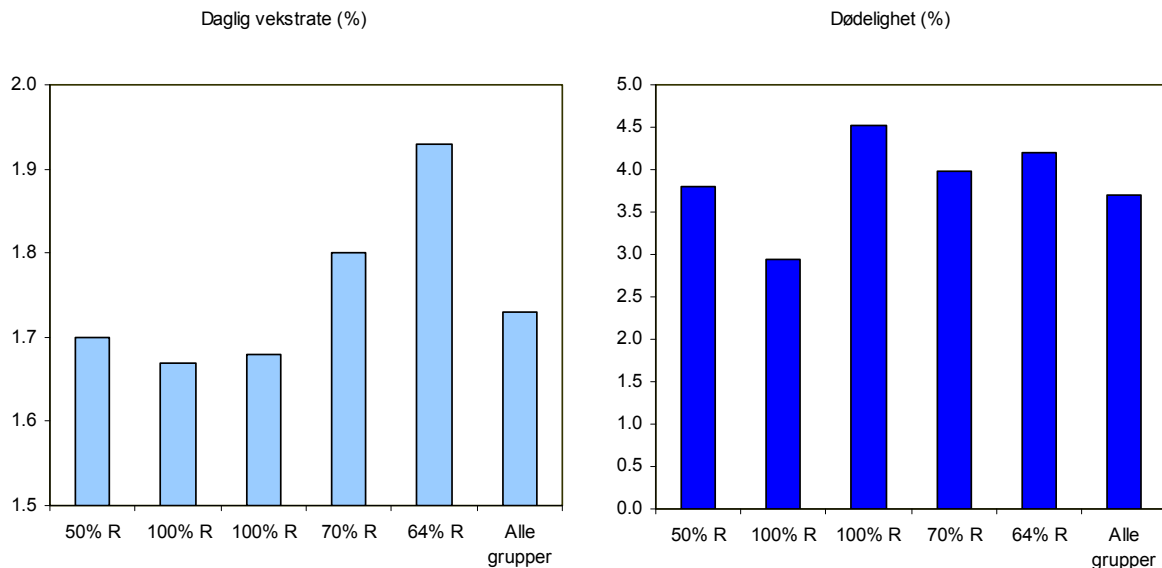
Figur 11 viser variasjonen i daglig tilvekst mellom ulike produksjonsenheter gjennom prosjektperioden. Det er relativt stor variasjon mellom produksjonsenheter både i gjennomstrømming –og RAS produksjon. Kar 2 kommer best ut av karene som ble fulgt opp med strømmålinger.



Figur 12 Dødelighet (%) etter vaksinerings fram til utsett vinter 2009. Kar 2,5 og 6 er kar som ble fulgt opp gjennom Trenlaks 2 prosjektet.

Figur 12 viser variasjonen i dødelighet mellom ulike produksjonsenheter gjennom prosjektperioden. Det er relativt stor variasjon mellom produksjonsenheter både i gjennomstrømming og RAS produksjon. Kar 2 kommer best ut av karene som ble fulgt opp med strømmålinger.

Ved utsetting i sjø ble fisk fra de ulike produksjonsenhetene satt ut i nøter med ulikt blandingsforhold mellom RAS produsert og gjennomstrømningsprodusert fisk (lokalitet Vullum). Etter 5 måneder hadde fisken oppnådd en snittvekt på 1,03 kg.



Figur 13 Daglig vekstrate (%) og % dødelighet i en 5 mnd periode etter utsett av fisk fra Aakvik settefisk på lokalitet Vullum. % andel fisk fra RAS produksjon er angitt i de ulike merdene.

I sjøfasen (Fig. 13) var det noe variasjon i tilvekst og dødelighet mellom ulike merder. Siden fisken var omfordelt fra de ulike karene som en blanding av RAS produsert og gjennomstrømningsprodusert fisk, er det vanskelig å dra noen sikre konklusjoner om hvorvidt produksjonsforholdene i landfasen var av stor betydning for dette resultatet.

Dataene demonstrerer en god del variasjon i både tilvekst og dødelighet. Imidlertid vil det i en situasjon der en sammenligner en prestasjoner på fisk fra ulike produksjonsenheter i kommersiell produksjon være krevende å påvise spesifikke effekter av et tiltak som for eksempel forbedret vannstrøm.

5.4 Konklusjoner

- Metodikk for strømmålinger i kommersiell skala under vanlig drift er etablert og evaluert. Dette verktøyet er nå klar til å tas i bruk, og vil være svært nyttig ved testing og eventuell implementering av teknologi i kommersiell skala.
- Evalueringen av strømhastighet i kar med ulik design viser betydningen av de tekniske løsninger som velges på strømbildet i karene. I tillegg gir dagens design lite rom for justering av strømhastigheter i korte perioder for å oppnå "intervalltreningseffekter". Det er derfor behov for videre utviklingsarbeid på tekniske løsninger som kan muliggjøre implementering av optimale treningsprotokoller.
- Fysiologiske målinger er utført, og viser potensial som dokumentasjonsverktøy både på treningseffekter, stress og vannkjemiske forhold i kommersiell skala. For utvikling

av en "verktøykasse" med spesifikke markører for treningseffekter, vil analyser av utførte og pågående forsøk forhåpentligvis resultere i en kvalitetssikret og kostnadseffektiv samling parametre.

- En gjennomgang av produksjonsdata fra Aakvik settefisk viser ikke noen klare sammenhenger mellom karstrøm og fiskens prestasjon målt som overlevelse og vekst. Imidlertid kan andre forhold som ulike produksjonsregimer, vannkvalitet og sykdomshistorikk bidra til at effekter av karstrøm ikke kommer så klart frem som under kontrollerte forsøk. Selv om kompleksiteten i kommersiell skala gjør sikre konklusjoner vanskelig å få frem, vurderes det likevel som svært viktig å ha med seg også dette aspektet i det videre arbeidet for å kunne overføre erfaring mellom laboratorieskala og kommersiell skala.

6 Aktivitet C: Styrke det faglig grunnlaget for en fremtidig kommersiell løsning for et nytt karsystem med tilhørende program for å trene laks fra yngel til smoltstadiet

6.1 Introduksjon

I prosjektet TrenFisk-1 (FHF prosjekt 522014) etablerte vi forskjellige treningsregimer ved bruk av en kombinasjon av vanntrykk i ringledningene og størrelsen på dyseåpningene i innløpsrørene. Vi brukte 500 liters grupperespirasjonskar for dette formålet. Det var som sedvanlig alt for kort tid til forberedelser, og vi måtte ta noen raske avgjørelser. Det oppsettet som vi brukte i TrenFisk-1 hadde to begrensende faktorer for vannhastigheten i karene, som var trykket i innkommende vann (1.35 bar), samt antall liter vann som avløpene til karene kunne håndtere. For ytterligere å øke strømningshastigheten i en lang "intervall" periode, ble det høyeste punktet på avløpsrøret manuelt senket en gang i døgnet, og satt tilbake 8 timer senere. En konsekvens av dette var at vi måtte ofre muligheten for å måle oksygenforbruket i grupperespirasjonskarene gjennom treningsperioden. Systemet var også lite egnet for automatisering. Den høyeste hastigheten som ble brukt i TrenFisk-1 var 17 cm/sek ($\pm 0,031$ standardfeil eller 18,9 % coefficient of variation (CV)).

Med dette utgangspunktet satte vi oss fore å lage et system som skulle tilfredsstillende følgende krav:

1. Bruk av kortere intervaller som kunne styres automatisk
2. Bruk av høyere hastighet i karene
3. Mest mulig homogen strømningsprofil i karene
4. Fleksibilitet til antall behandlinger
5. Mulighet for å måle oksygenforbruket til fiskene under treningen.

6.2 Resultater og diskusjon

Etter en del prøving fokuserte vi på et system hvor det ble montert på en strømsetningspumpe på hvert kar. Pumpeytelsen ble optimalisert mot størrelsen på åpningene i dysene på strømsetningsrøret, og styrt av en PLS. Denne modellen tillot en overgang fra lav hastighet til en stabil, høy hastighet i løpet av et par minutter, og systemet er dermed godt egnet for treningsprogrammer med relativt korte intervaller. I disse karene ble det tradisjonelle innløpsrøret bygd om slik at det fikk minimal innflytelse på strømsetting av karene.

Enhver form av trening betyr et økt energiforbruk. I motsetning til humane atleter som ofte er i ernæringsmessig vedlikeholdssituasjon, er oppdrettsfisken i en rask vekstfase. Fra et produksjonsmessig ståsted er det derfor essensielt at energiforbruket ved trening ikke går på bekostning av tilveksten til laksen. En evaluering av laksetrening krever derfor både nøyaktige målinger av fôrintak, fordøyelighet og avleiringen av kroppsvev. Fiskenes oksygenforbruk er en direkte refleksjon av deres energiforbruk, og målinger av oksygenforbruket kan gi ytterligere detaljer om hvordan fiskene utnytter fôrenergien. I grupperespirasjonskarene måler vi oksygenforbruket til fiskene automatisk flere ganger daglig. Dette gjøres gjennom hele treningsperioden.

Med dagens programmering av styringen kan vi la fiskene ha inntil 10 treningsøkter per dag (høy og lav hastighet). I forbindelse med utprøvingen målte vi vannhastigheten i karene på 12 punkter, og den høyeste gjennomsnittshastigheten var på 27 cm/sek ($\pm 0,048$ standardfeil eller 17,5 % CV). Vi har individuell styring av 5 kargrupper, som hver består av 3 kar.

6.3 Konklusjon

Basert på ombyggingen utført som del av TrenFisk-2 prosjektet gjennomførte vi høsten 2009 et vellykket treningsforsøk finansiert av NFR og FHF. Den nye treningslabben tillater bruk av større treningsbelastning, samt en større variasjon i intervallregimer.

7 Aktivitet D: Invitere to fremragende internasjonale forskere med spesialkompetanse på fisketrening til Norge for kunnskapsoverføring til eksisterende FHF prosjekt og for å bidra inn mot NFR søknad til Havbruksprogrammet i juni 2008

7.1 Resultater og diskusjon

Guy Claireaux fra Universitet i Brest (Frankrike) og Anthony Farrell fra Universitetet i British Columbia (Canada) besøkte prosjektgruppen over to dager i 2008. Møtet var veldig positivt og var spesielt viktig for å bygge opp personlige relasjoner. Begge disse to vil ha viktige roller i NFR/FHF prosjektet som har fått finansiering fra og med 2009.

8 Aktivitet E: Teste ut det kommersielle potensialet for et TrenFisk konsept på representanter fra settefisknæringen og prosjektgruppe

8.1 Resultater og diskusjon

Prosjektgruppen har sendt skriftlig informasjon til referansegruppen (Tabell 5) på mail gjennom prosjektperioden. I tillegg gjennomførte vi et halvdagsmøte på AquaNor 2009 i Trondheim hvor referansegruppen var godt representert. I særskilt grad har vi benyttet kontakt med Kjell Maroni (FHL) som et meget viktig knytestpunkt mellom prosjektgruppen og næringen, samt dialog med sentrale representanter i forbindelse med andre prosjektmøter og arrangement. I oktober inviterte vi også Kjell Maroni og Sunil Kadri (OptoSwim) på TrenFisk prosjektmøte for å diskutere hvordan en på en best mulig måte kan overføre vår treningskunnskap til næringen. I Fitnessfish prosjekt, som er basert på TrenFisk 1 og 2, har vi videreført kontakten med referansegruppen og vi anser dette som en særdeles viktig arena for kunnskapsutveksling.

Tabell 5 Referansegruppens medlemmer.

Navn	Firma
Brit Tørud	Aakvik settefisk
Morten Lund	Åsen settefisk
Karl Christian Aag	Salmar
Carl Erik Arnesen	Firdagruppen
Sveinung Sandvik	Sjøtroll
Olav Breck	Marine Harvest
Kjell Maroni	FHL
Harald Takle	Nofima
Barb Grisdale-Helland	Nofima
Ståle Helland	Nofima
Torstein Kristensen	NIVA
Trond Rosten	NIVA
Jan Helgerud	NTNU medisin
Trygve Poppe	NVH

9 Aktivitet F: Avklare videre løp med kommersialisering av konseptet

9.1 Resultater og diskusjon

Muligheten for kommersialisering av konseptet trening av fisk har vært diskutert i prosjektgruppen, og TrenFisk prosjekt fikk stille som en av få utvalgt caser på MareLife 2009. Invitasjonen til MareLife og tilbakemeldinger fra referansegruppen viser at det er stor kommersiell interesse for å ta i bruk trening av fisk.

Basert på diskusjoner mellom instituttene som deltar i TrenFisk konsortiet er for øvrig konklusjonen per nå at prosjektgruppen ikke har noe konkret å verken patentere eller kommersialisere. Derimot har vi prioritert å få i stand et gjensidig avtaleverk mellom alle deltakende selskap og institusjoner for å sikre oss muligheten til å ivareta en kommersialisering på en best mulig måte om den skulle oppstå. Dette har vi gjort ved å utarbeide en konsortieavtale for NFR/FHF prosjektet FitnessFish. Denne avtalen tok utgangspunkt i NFR sitt templat for konsortiumsamarbeid og er en god måte å regulere og ivareta IP rettigheter innad i gruppen og sikre en ryddig prosess slik at vi ikke lager unødige vansker for fremtidige muligheter for patentering etc. Utarbeidelse av avtalen var ressurskrevende, men vi anser avtalen som viktig for vårt videre arbeid. På det nåværende stadium anser prosjektgruppen selve treningsprotokollene som den enkeltstående innsatsfaktoren med størst potensial for både patentering og kommersialisering. Det viktigste for prosjektgruppen er uansett å bidra med forskningen som skal til for at næringen kan ta i bruk prinsippet om trening, samtidig som at vi er tydelige på at kunnskapsoverføringen må være kontrollert slik at det ikke oppstår en misoppfatning om at det bare er å ukritisk skru opp vannhastigheten i karene.

10 Formidling

Prosjekt gruppen har vært aktive med å formidle resultatene til næringen gjennom foredrag og mediekontakt. For øvrig, vil aktiviteten øke igjen nå når vi kjører nye forsøk.

10.1 Media (utdrag)

- **Situasjonsrapport fra Chilensk oppdrett**
NRK2 og NRK nett-tv – 02.12.08.
Kan trening av fisk bidra til å løse oppdrettskrisa i Chile og hvilke andre tiltak er viktige.
- [Betre rusta mot IPN](#)
Kyst.no - 21.08.2008 09:51
Ballstad: Resultat frå smittetestar med IPN viser at fisk som har fått ekstra trening har lågare dødelegheit. Fysisk trening gir også betre vekst, sier Niva-forsker Torstein Kristensen.
- [Lakseidrett skal gi toppoppdrett](#)
Intrafish - 08.05.2008
Med pulsklokke i magen er smålaks satt i hardtrening. Resultatene tyder på at fisken vokser raskere og blir mer robust når den er i god form.
- [Lakseidrett skal gi toppoppdrett](#)
Forskning.no - 05.05.2008 06:15
Med pulsklokke i magen er smålaks satt i hardtrening. Resultatene tyder på at fisken vokser raskere og blir mer robust når den er i god form.
- **Salmon get training tips from football**
AquaFeed – 14.05.08 by Suzi Fraser

10.2 Foredrag

- AquaSur konferansen 2008 – Harald Takle
- Lofotseminaret 2008 arrangert av Europharma – Torstein Kristensen
- Chiles nasjonale veterinærkonferanse 2008 – Harald Takle
- Frisk Fisk konferansen 2009 – Torstein Kristensen
- Frisk Fisk konferansen 2009 – Barb Grisdale-Helland/T. Kristensen
- MareLife Innovation Workshop 2009 – Ståle Helland

10.3 Artikler

- Kristensen, T, Urke, H.A., Poppe, T., Takle, H. (2009) Atrial natriuretic peptide levels and heart morphology in migrating Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts from 4 rivers with different environmental conditions. Aquaculture. (Submitted in October)
- 1 artikkel som omhandler hovedfunn så langt er under utarbeiding.
- 1 artikkel som omhandler immunkompetanse hos trent fisk er under utarbeiding.
- 1 artikkel fra utviklingsarbeidet med hjerteratemålere er under utarbeiding.

11 Økonomi

Den økonomiske gjennomføringen av prosjektet har vært i henhold til opprinnelig prosjektplan (Tabell 6). I tillegg ble det benyttet NOK 90 000 som ble overført fra TrenFisk 1 prosjektet. Disse pengene brukt til å dekke kostnadene tilknyttet Aktivitet C som viste seg å være mer kostnadskrevene enn først antatt.

Tabell 6 Totalbudsjett for TrenFisk 2.

Aktivitet A	2008	2009	Totalt
Nofima			
Totalt	400.000		
	2008	2009	Totalt
Totalt aktivitet A	400.000		400.000
Aktivitet B	2008	2009	Totalt
Nofima			
Totalt	70.000	300.000	370.000
FoU partnere			
Totalt	75.000	115.000	190.000
	2008	2009	Totalt
Totalt aktivitet B	145.000	415.000	560.000
Aktivitet C	2008	2009	Totalt
Nofima			
Totalt	475.000		475.000
FoU partnere			
Totalt	50.000		50.000
	2008	2009	Totalt
Totalt aktivitet C	525.000		525.000
Aktivitet D	2008	2009	Totalt
Nofima			
Totalt	70.000		70.000
Totalt aktivitet D	70.000		70.000
Aktivitet E	2008	2009	
Nofima			
Totalt	30.000	30.000	60.000
FoU partnere			
Totalt	47.500	47.500	95.000
Totalt aktivitet E	77.500	77.500	155.000
Aktivitet F	2008	2009	Totalt
Nofima			
Totalt	25.000	35.000	60.000
FoU partnere			
Totalt	35.000	25.000	60.000
Totalt aktivitet F	60.000	60.000	120.000
	2008	2009	Totalt
Totalt Prosjektet	1.277.500	552.500	1.830.000

12 Referanser

- Anttila, K., Jarvilehto, M., Manttari, S., 2008. The swimming performance of brown trout and whitefish: the effects of exercise on Ca²⁺ and oxidative capacity of swimming muscles. *J. Comp. Physiol. B* 178, 465-475.
- Anttila, K., Manttari, S., Jarvilehto, M., 2006. Effects of different training protocols on Ca²⁺ handling and oxidative capacity in skeletal muscle of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *The Journal of Experimental Biology* 209, 2971-2978.
- Avellini, L., Chiaradia, E., Gaiti, A., 1999. Effects of exercise training, selenium and vitamin E on some free radical scavengers in horses (*Equus caballus*). *Comparative biochemistry and Physiology Part B* 123, 147-154.
- Baeverfjord, G., 1998. Feilutvikling og deformiteter hos laks (in Norwegian), Aas, Norway, pp. 22.
- Bhoj, B.G., Chen, Z.J., 2009. Ubiquitylation in innate and adaptive immunity. *Nature* 458, 430-437.
- Boyle, D.L., Kowaluk, E.A., Jarvis, M.F., Lee, C., Bhagwat, S.S., Williams, M., Firestein, G.S., 2001. Anti-inflammatory effects of ABT-702, a novel non-nucleoside adenosine kinase inhibitor, in rat adjuvant arthritis. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 296, 495-500.
- Booth, F.W., Lees, S.J., 2007. Fundamental questions about genes, inactivity and chronic diseases. *Physiol. Genomics* 28, 146-157.
- Brocklebank, J., Raverty, S., 2002. Sudden mortality caused by cardiac deformities following seining of preharvest farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) and by cardiomyopathy of postintraoperatively vaccinated Atlantic salmon parr in British Columbia. *Can. Vet. J.* 43, 129-130.
- Brun, E., Poppe, T., Skrudland, A., Jarp, J., 2003. Cardiomyopathy syndrome in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): occurrence and direct financial losses for Norwegian aquaculture. *Dis. Aquat. Org.* 56(3): 241-247.
- Bruunsgaard, H., 2005. Physical activity and modulation of systemic low-level inflammation. *Journal of Leukocyte Biology* 78, 819-835.
- Claireaux, G., McKenzie, D.J., Genge, A. G., Chatelier, A., Aubin, J., Farrell, A.P., 2005. Linking swimming performance, cardiac pumping ability and cardiac anatomy in rainbowtrout. *J. Exp. Biol.* 208, 1775-1784.
- Conner, E.M., Grisham, M.B., 1996. Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition* 12, 274-277.
- Conolly, P.H., Caiozzo, V.J., Zaldivar, F., Nemet, D., Larson, J., Hung, S., Heck, J.D., Hatfield, G.W.,
- Cooper, D.M., 2004. *Journal of Applied Physiology* 97, 1461-1469.
- Dane, S., Taysi, S., Gul, M., Akcay, F., Gunal, A., 2008. Acute exercise induced oxidative stress is prevented in erythrocytes of male long distance athletes. *Biology of Sport* 25, 115-124.
- Davie, P.S., Wells, R.M.G., Tetens, V., 1986. Effects of sustained swimming on rainbow trout muscle structure, blood oxygen transport, and lactate dehydrogenase isozymes, evidence for increased aerobic capacity of white muscle. *J. Exp. Zool.* 237, 159-171.
- Davison, W., 1997. The effect of exercise training on teleost fish, a review of recent literature. *Comp. Biochem. Physiol.* 117A, 67-75.
- Djordjevic, B., Kristensen, T., Øverli, Ø., Rosseland, B.O. and Kiessling, A., 2009. Effect of nutritional status and sampling intensity on recovery after dorsal aorta cannulation in free-swimming Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish. Physiol. Biochem.* DOI 10.1007/s10695-009-9362-2
- Ellis, A.E., 2001. Innate host defense mechanisms of fish against viruses and bacteria. *Developmental and comparative immunology* 25, 827-839.
- Farrell, A.P., Johansen, J.A., Suarez, R.K., 1991. Effects of exercise-training on cardiac performance and muscle enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiol. Biochem.* 9, 303-312.

- Farrell, A.P., Johansen, J.A., Steffensen, J.F., Moyes, J.F., West, T.G., Suarez, R.K., 1990. Effects of exercise training and coronary ablation on swimming performance, heart size, and cardiac enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Can. J. Zool.* 68, 1174-1179.
- Fisher-Wellman, K., Bloomer, R.J., 2009. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic Medicine* 8, 25 pp.
- Fjellheim, A.J., Kristensen, T., Åtland, Å. og Rosseland, B.O. (2010). Råvannskvalitet i norske settefiskanlegg for laks relatert til vannkvalitetskrav i resirkuleringsanlegg. *Vann*, 1, 2010.
- Gallaugh, P.E., Thorarensen, H., Kiessling, A., Farrell, A.P., 2001. Effects of high intensity exercise training on cardiovascular function, oxygen uptake, internal oxygen transport and osmotic balance in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) during critical speed swimming. *J. Exp. Biol.* 204, 2861-2872.
- Gamperl, A.K., Farrell, A.P., 2004. Cardiac plasticity in fishes: environmental influences and intraspecific differences. *J. Exp. Biol.* 207, 2539-2550.
- Gleeson, M., 2000. Overview: Exercise immunology. *Immunology and Cell Biology* 78, 483-484.
- Gleeson, M., 2007. Immune function in sport and exercise. *J Appl Physiol* 103, 693-699.
- Grisdale-Helland, B., Helland, S., 1995. Methods to assess optimal nutrient composition of diets for Atlantic salmon. *J. Appl. Ichthyol.* 11, 359-362.
- Helgerud, J. Høydal, K., Wang, E., Karlsen, T., Berg, P.R., Bjerkaas, M., Simonsen, T., Helgesen, C.S., Hjorth, N.L., Bach, R., Hoff, J., 2007. Aerobic high-intensity intervals improve VO_{2max} more than moderate training. *Med. Sci. Sports Exer.* 39, 665-671.
- Helland, S.J., Grisdale-Helland, B., Nerland, S., 1996. A simple method for the measurement of daily feed intake of groups of fish in tanks. *Aquaculture* 139, 157-163.
- Hochachka, P.W., 1961. The effect of physical training on oxygen debt and glycogen reserves in trout. *Can. J. Zool.* 39, 767-776.
- Hollander, J., Fiebig, R., Gore M., Ookawara, T., Ohno, H., Ji, L.L., 2001. Superoxide dismutase gene expression is activated by a single bout of exercise in rat skeletal muscle. *Eur. J. Physiol.* 442, 426-434.
- Itoh, H., Ohkuwa, T., Yamamoto, T., Sato, Y., Miyamura, M., Naoi, M., 1998. Effects of endurance physical training on hydroxyl radical generation in rat tissue. *Life Sciences* 63, 1921-1929.
- Janeway, C., Murphy, K., Travers, P., Walport, M., 2008. *Janeway's Immunobiology*, 7th edition Garland Science publishers.
- Jarvis, M.F., Yu, H., McGaraughty, S., Wismer, C.T., Mikusa, J., Zhu, C., Chu, K., Kohlhaas, K., Cowart, M., Lee, C., Stewart, A.O., Cox, B.F., Polakowski, J., Kowaluk, E.A., 2002. Analgesic and anti-inflammatory effects of A-286501, a novel orally active adenosine kinase inhibitor. *PAIN* 96, 107-118.
- Jimenez-Jimenez, R., Cuevas, M.J., Almar, M., Lime, E., Garcia-Lopez, D., De Paz, J.A., Gonzalez-Gallego, J., 2008. *Mechanisms of Ageing and Development* 129, 313-321.
- Jobling et al., 1993. The effect of prolonged exercise training on growth performance and production parameters in fish. *Aquaculture International* 1, 95-111.
- Jørgensen og Jobling, 1994. Feeding and growth of exercised and unexercised juvenile Atlantic salmon in freshwater, and performance after transfer to seawater. *Aquaculture International* 2, 154-164.
- Karlson, A. (2009). Fra vann til blod. *Vann* 4, 438-443.
- Kojda, G., Hambrecht, R., 2005. Molecular mechanisms of vascular adaptations to exercise. Physical activity as an effective antioxidant therapy? *Cardiovascular Research* 67, 187-197.
- Krasnov, A., Afanasyev, S., Oikari, A., 2007. *Environ. Toxicol. Chem.* 26, 100-109.
- Kristensen, T., Åtland, Å., Rosten, T., Urke, H.A. and Rosseland, B.O., 2009. Important influent-water quality parameters at freshwater production sites in two salmon producing countries. *Aquacult. Eng.* 41, 53-59.

- Kroglund, F., Finstad, B., Stefansson, S.O., Nilsen, T., Kristensen, T., Rosseland, B.O., Teien, H.C. and Salbu, B., 2007. Exposure to moderate acid water and aluminum reduces Atlantic salmon post-smolt survival. *Aquaculture*, 273, 360–373.
- Lachmann, P.J., Davies, A., 1997. Complement and immunity to viruses. *Immunological Reviews* 159, 69-77.
- LeClair, K.P., Blonar, M.A., Sharp, P.A., 1992. The p50 subunit of NF- κ B associates with the NF-IL6 transcription factor. *Proc. Natl. acad. Sci. USA* 89, 8145-8149.
- MacKenzie, S., Iliev, D., Liarte, C., Koskinen, H., Planas, J., Goetz, F.W., Mölsa, H., Krasnov, A. and Tort, L., 2006. Transcriptional analysis of LPS-stimulated activation of trout (*O. mykiss*) monocyte/macrophage cells in primary culture treated with cortisol. *Mol. Immunol.* 43, 1340-1348.
- Mathur, N., Pedersen, B.K., 1998. Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation. *Mediators of Inflammation*. Article ID 109502, 6 pp.
- Matsusaka, T., Jujikawa, K., Nishio, Y., Mukaida, N., Matsushima, K., Kishimoto, T., Akira, S., 1993. Transcription factors NF-IL6 and NF- κ B synergistically activate transcription of the inflammatory cytokines, interleukin 6 and interleukin 8. 1993. *Proc. Natl. acad. Sci. USA* 90, 10193-10197.
- Navarro, A., Comez, C., Lopez-Cepero, J.M., Boveris, A., 2003. Beneficial effects of moderate exercise on mice ageing: survival, behavior, oxidative stress, and mitochondrial electron transport. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 268, R505-R511.
- Pedersen, B.K., Rohde, T., Ostrowski, K., 1998. Recovery of the immune system after exercise. *Acta Physiol. Scand.* 162, 325-332.
- Pedersen, B.K., Steensberg, A., Fischer, C., Keller, C., Keller, P., Plomgaard, P., Febbraio, M., Saltin B., 2003. Searching for the exercise factor: is IL-6 a candidate?. *Journal of Muscle Research and Cell Motility* 24, 113-119.
- Petersen, A.M.W., Pedersen, B.K., 2004. The anti-inflammatory effects of exercise. *Journal of Applied Physiology* 98, 1154-1162.
- Poppe, T.T., Taksdal, T., 2000. Ventricular hypoplasia in farmed Atlantic salmon *Salmo salar*. *Dis. Aquat. Org.* 42, 35-40. Poppe, T.T., Johansen, R., Gunnes, G., Tørud, B., 2003. Heart morphology in wild and farmed Atlantic salmon *Salmo salar* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Dis. Aquat. Org.* 57, 103-108. Poppe, T.T., Johansen, R., Tørud, B., 2002. Cardiac abnormality with associated hernia in farmed rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Dis. Aquat. Org.* 50, 153-155.
- Poppe, T.T., Midtlyng, P., Sande, R.D., 1998. Examination of abdominal organs and diagnosis of deficient *septum transversum* in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., using diagnostic ultrasound imaging. *J. Fish Dis.* 21, 67-72.
- Refstie, T., Fjalestad, K., Gjerde, B., 1993. Sluttrapport fra prosjekt: Oppstart av seleksjon for å redusere frekvens av kardiomyopatisyndrom (CMS) hos oppdrettslaks. AKVAFORSK-rapport.
- Rognmo, O., Hetland, E., Helgerud, J., Hoff, J., Slordahl, S.A., 2004. High intensity aerobic interval exercise for increasing aerobic capacity in patients with coronary artery disease. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.* 11, 216-222.
- Rosten, T., Urke, H. A., Åtland, Å., Kristensen, T., Rosseland, B. O., 2007. Sentrale drifts- og vannkvalitetsdata fra VK Laks – undersøkelsene fra 1999 til 2006. NIVA RAPPORT LNR 5352-2007, 16 sider
- Sachdev, S., Davies, K.J.A., 2008. Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise. *Free Radical Biology & Medicine* 44, 215-223.
- Santoro, M.G., Rossi A., Amici, C., 2003. NF- κ B and virus infection: who controls whom. *The EMBO Journal* 11, 2552-2560.
- Shephard, R.J., 2000. Overview of the epidemiology of exercise immunology. *Immunology and Cell Biology* 78, 485-495.

- Silva, L.A., Pinho, C.A., Scarabelot, K.S., Fraga, D.B., Volpato, A.M.J., Boeck, C.R., De Souza, C.T., Streck, E.L., Pinho, R.A., 2009. Physical exercise increases mitochondrial function and reduces oxidative damage in skeletal muscle. *Eur. J. Appl. Physiol.* 105, 861-867.
- Takle, H., Baeverfjord, G., Helland, S., Kjorsvik, E., Andersen, O., 2006. Hyperthermia induced atrial natriuretic peptide expression and deviant heart development in Atlantic salmon *Salmo salar* embryos. *Gen. Comp. Endocrinol.* 147, 118-125.
- Takle, H., Baeverfjord, G., Lunde, M., Kolstad, K., Andersen, O., 2005. The effect of heat and cold exposure on *HSP70* expression and development of deformities during embryogenesis of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 249, 515-524.
- Tørud, B., Hillestad, M., 2004. Hjerte-rapporten; Rapport om hjertelidelser hos laks og regnbueørret (*In Norwegian*) pp.1-69.
- Urso, M.L., Clarkson, P.M., 2003. Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation. *Toxicology* 189, 41-54.
- Wang, J., Maldonado, M.A., 2006. The Ubiquitin-Proteasome System and its role in Inflammatory and autoimmune diseases. *Cellular and molecular Immunology* 3, 255-261.
- Woods, J.A., Lu, Q., Ceddia, M.A., Lowder, T., 2000. Exercise-induced modulation of macrophage function. *Immunology and Cell Biology* 78, 545-553.



ISBN 978-82-7251-738-9 (trykt)
ISBN 978-82-7251-739-6 (pdf)
ISSN 1890-579X