



Oppdatering av utredningen:

Effekter av endret fettsyresammensetning i fôr til laks relatert til fiskens helse, velferd og robusthet

“Fett for fiskehelse - 2016”



Prosjektgruppe og forfattere 2013 og 2016

Nini Sissener, NIFES (Forsker, 2013 og 2016; Prosjektleder 2016)

Bente E. Torstensen, NIFES (Forskningsdirektør, 2013 og 2016; Prosjektleder 2013)

Bente Ruyter, Nofima (Seniorforsker, professor, 2013 og 2016)

Tone-Kari Østbye, Nofima (Forsker, 2013 og 2016)

Rune Waagbø, NIFES (Forskningsjef, professor, 2013 og 2016)

Sven Martin Jørgensen, Nofima (Forsker, 2013 og 2016)

Bjarne Hatlen, Nofima (Seniorforsker, 2016)

Nina Liland, NIFES (Forsker, 2013 og 2016)

Elisabeth Ytteborg, Nofima (Forsker, 2013 og 2016)

Øystein Sæle, NIFES (Forsker, 2016)

Ida Rud, Nofima (Forsker, 2013 og 2016)

Sofie C. Remø, NIFES (Forsker, 2016)

Turid Mørkøre, Nofima (Seniorforsker; 2013)

Jens-Erik Dessen, Nofima (Forsker, 2013 og 2016)

Kaja Skjerven, NIFES (Forsker, 2016)

Trine Ytrestøyl, Nofima (Seniorforsker, 2016)

Elisabeth Holen, NIFES (Seniorforsker, 2016)

Gerd Berge, Nofima (Seniorforsker; 2016)

Anne Catrin Adam, NIFES (Stipendiat, 2016)

Prosjektets styringsgruppe 2016

Eldar Bendiksen, Salmar.

Olai Einen, Cermaq.

Øyvind Oaland, Marine Harvest Group.

Arne Schei, Lerøy Seafood Group ASA.

Prosjektets styringsgruppe 2013

Tor Eirik Homme, Grieg Seafood (leder av SG)

Leiv Tvenning, Marine Harvest.

Harald Sveier, Lerøy Seafood Group ASA.

Merete Bjørgan Schrøder, FHF (observatør)

Kjell Naas, Norges forskningsråd (observatør)

Prosjektets referansegruppe 2013

Grethe Rosenlund, Skretting ARC.

Sigurd Tonheim, Ewos.

Håvard Jørgensen, Biomar.



Innhold

Forord.....	6
Oppsummering.....	7
English summary	12
Innledning.....	17
Hva er kjent om minimumsbehov for EPA og DHA i laks og ørret?	18
Hvordan definerer vi ernæringsbehov i dagens intensive matproduksjon av laks og ørret?	22
Hvorfor er fett viktig for fiskens helse og velferd? Kort om funksjon av fett:	23
Navnsetting av fettsyrer	24
Bioaktive funksjoner av fett	26
Ernæringsrelaterte helse- og velferdsutfordringer i oppdrett av laks og ørret.	32
Motstandsdyktighet mot infeksjoner inkludert inflammasjon	32
Katarakt	36
Benhelse	38
Fettdeponering som symptom på omega-3 mangel?	40
Innvolls fett.....	40
Økt fettdeponering i lever	41
Økt fettdeponering rundt hjerte	42
Hjerte/kar helse.....	43
Tarmhelse.....	44
Mikrobiota (tarmflora) hos laksefisk	46
Stress	48
Pigmentering	51
Samspill mellom fettsyresammensetning i fôr og andre faktorer	54
Fytosteroler	54
Samspill med andre næringsstoff og fremmedstoff i fôr	55
Tidlige livsstadier	56
Hvordan påvirker endringer av fett i fôr mengden i spiselig del?.....	59
Mettet fett.....	62
Enumettet fett	64
Omega-6	65
Forholdet mellom omega-3 og omega-6	66
Strategier for å optimalisere lagring av EPA og DHA.....	69

Sesongvariasjoner i fettlagring.....	69
Optimalisering av fettsyrer i fôr for EPA og DHA retensjon	71
Nye kilder til EPA og/eller DHA	75
Ressursregnskap for EPA og DHA utnyttelse.....	76
Kan avl gi økt kapasitet til å produsere og lagre EPA og DHA?	77
Genmodifisering av fisk	78
Referanser:	80
Ahmed MA., Abd EL Samad AA 2013 Benefits of omega-3 fatty acid against bone changes in salt-loaded rats: possible role of kidney. Physiological reports 1:5.....	80



Foto: Helge Skodvin

Forord

En rekke prosjekter innen tema fettsyresammensetning og fiskehelse, finansiert av både Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond (FHF) og Norges forskningsråd (NFR), har blitt gjennomført ved Nofima og NIFES siden den opprinnelige *Fett for fiskehelse*- rapporten ble skrevet i 2013. Da mange av disse prosjektene nå er avsluttet, så man et behov for å oppdatere rapporten med nye funn, inkludert nye publiserte studier fra andre forskningsmiljøer. Dette vil sikre at resultatene raskt når ut til relevante næringsaktører, samt at vi har et felles grunnlag for å vurdere hvilke kunnskapshull som gjenstår og veien videre for forskningen på dette feltet.

Denne rapporten oppsummerer kunnskapsstatus for laks og ørrets minimumsbehov for EPA og DHA. Det er fokusert på hvilke minimumsbehov som sikrer god fiskeytelse i form av vekst og helse, og hvordan fettsyresammensetningen i fiskens filet påvirkes. Videre er det et mål å oppsummere kunnskapsstatus for fiskens vekst og helse når fiskeolje i fôret erstattes med alternative oljekilder med andre fettsyrer. Der kunnskapen er sprikende eller mangelfull er det rapportens oppgave å identifisere kunnskapshull.

Prosjektgruppen i 2016 bestod av mange av de samme personene som i 2013, men med noen utvidelser; deltakelse de respektive årene er indikert i forfatterlisten. Prosjektet ble i 2016 ledet av forsker Nini H. Sissener (NIFES), i tett samarbeid med seniorforsker Bente Ruyter (Nofima), samt forskningsdirektør Bente E. Torstensen (NIFES, nå Marine Harvest) i de tidlige fasene av prosessen. En styringsgruppe bestående av sentrale aktører i fôr- og sjømatnæringen ble opprettet for å sikre utredningens relevans for næringen, og det ble arrangert et dialogmøte med næringsaktører i Bergen 19. mai, der rapporten ble presentert og diskutert.

Deler av teksten, spesielt i kapitlene om hvordan man definerer ernæringsbehov og om funksjonen av fett, er lite endret siden forrige versjon av rapporten. I de øvrige kapitlene er hovedfokuset på nyere resultater, mens eldre resultater ofte er kortere oppsummert. *Som i forrige versjon av rapporten er EPA og DHA uttrykt som % av fôret i teksten, ikke % av fettsyrer. For nøkkelstudier er imidlertid både fettprosent, EPA og DHA som % av fettsyrer og n-6/n-3 ratio oppgitt i fotnoter slik at denne informasjonen er lett tilgjengelig.*

Bergen, 01.06.2016

Nini H. Sissener

Oppsummering

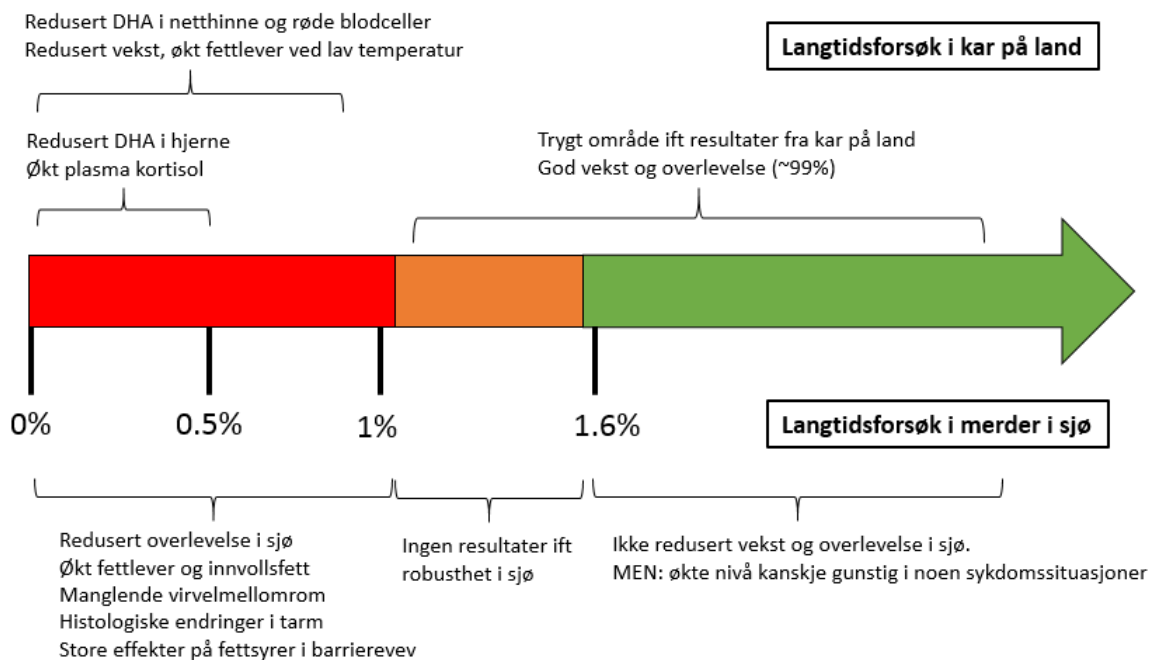
Rapporten oppsummerer kunnskapsstatus for laks og ørrets minimumsbehov for de langkjedede omega-3 fettsyrene EPA (eikosapentaensyre, 20:5n-3) og DHA (dokosaheksaensyre, 22:6n-3). Det er fokusert på minimumsbehov som unngår redusert ytelse i form av vekst og fiskehelse. Når mengden av de marine oljene i fiskefôr går ned må de erstattes med andre fettkilder. Totalt fettnivå i fôret endres også gjennom livsløpet. Det er derfor minst like viktig å vurdere samspillseffekter med endringer i det totale fettnivået, omega-6, mettet fett, enumettet fett og fytosteroler. Valg av alternative oljekilder i fremtidens fôr bør gjøres basert på fiskens ernæringsbehov og toleransegrenser for ulike fettsyrer. Siden fett og ulike fettsyrer er helt sentrale i en rekke biologiske funksjoner, er det naturlig at endringer i fettsyresammensetningen i fôret til laks og ørret vil ha konsekvenser for fiskens vekst, utvikling og helse på mange nivå. Der kunnskapen er sprikende eller mangelfull er det utredningens oppgave å identifisere kunnskapshull og FoU behov.

Minimumsbehov for EPA og DHA (Figur 1)

Samlet publisert materiale for regnbueørret og laks i ferskvannsfasen, tyder på at laks og ørret har behov for minimum 1% EPA og DHA i fôret for å unngå redusert tilvekst. Da det brukes relativt lite fôr i denne fasen, fôres laksen kommersielt med høy andel fiskeolje og fiskemel og får dermed mer en dekket minimumsbehovet. Dette har ført til at hovedfokus for forskning de siste årene har vært på behovet i sjøvannsfasen (oppsummert i Figur 1). Nyere resultater tyder på at lave EPA og DHA nivåer i fôr til laks stort sett ikke gir negative konsekvenser for ytelse og helse dersom forsøket er kortvarig og foregår under kontrollerte forsøksbetingelser (kar på land), da laksen har god evne til å konservere EPA og DHA i sentrale vev og organer (Ruyter m.fl., 2016). To langtidsforsøk gjennomført i kar viser at laks gjennom sjøvannsfasen trenger rundt 1% EPA og DHA av fôret for optimal vekst og for å opprettholde DHA-nivå i viktige vev som røde blodceller, netthinne og hjerne (Rosenlund m.fl., 2016, Sissener m.fl. 2016). På tross av effekter på DHA-nivå i disse vevene, fett i lever og plasma kortisol, var det ikke økt dødelighet ved nivåer ned til 0,5% i fôret, med en overlevelse på ~99 % i alle fôrgrupper. Dette står i kontrast til resultater fra et forsøk med merder i sjø som viste at 1% EPA og DHA i fôret var for lavt under krevende miljøbetingelser (Ruyter m.fl. 2016, FHF #900957). Laks fôret på 1% EPA og DHA eller lavere, hadde betydelig høyere dødelighet enn laks fôret med 1,7% av disse fettsyrene i fôret når fisken ble utsatt for gjentatt håndteringsstress som avlusning ved høye vanntemperaturer. EPA og DHA nivå $\leq 1\%$ av fôret førte bl.a. også til redusert nivå av

astaxanthin i muskel, økt mengde fett i lever og rundt innvoller, manglende virvelmellomrom i ryggrad og histologiske endringer i midttarm. Dette tyder på at laksen må ha over 1% EPA og DHA i fôret for å sikre en robust laks i sjø som tåler den håndteringen den møter under naturlige variasjoner i oppdrettsbetingelser (Ruyter m.fl., 2016). I et annet forsøk (Sissener m.fl., innsendt manuskript, CAC 2012G) gav en reduksjon av EPA og DHA fra 2.6 til 1.6% av fôret gjennom hele sjøvannsfasen i en kommersiell skala produksjon av laks, ingen reduksjon i vekst eller overlevelse, på tross av gjentatte avlusninger samt utbrudd av pankreas sykdom og gjelleinfeksjon. Samlede resultater fra disse forsøkene viser et minimumsbehov for EPA og DHA i sjøvannsfasen på >1% av fôret. Under dette nivået ser vi redusert vekst og en rekke helseeffekter, inkludert høy dødelighet ved utfordrende miljøbetingelser i sjø. EPA og DHA-nivåer på 1,6% av fôret og høyere ser ut til å være trygge, selv om det er indikasjoner på at høyere nivåer kan være positivt i noen sykdomssituasjoner. Området mellom 1,1 og 1,6% går fint i langtidforsøk i kar, mens vi ikke har data til å konkludere angående robusthet i sjø.

EPA og DHA behov for laks gjennom sjøvannsfasen, % av fôr



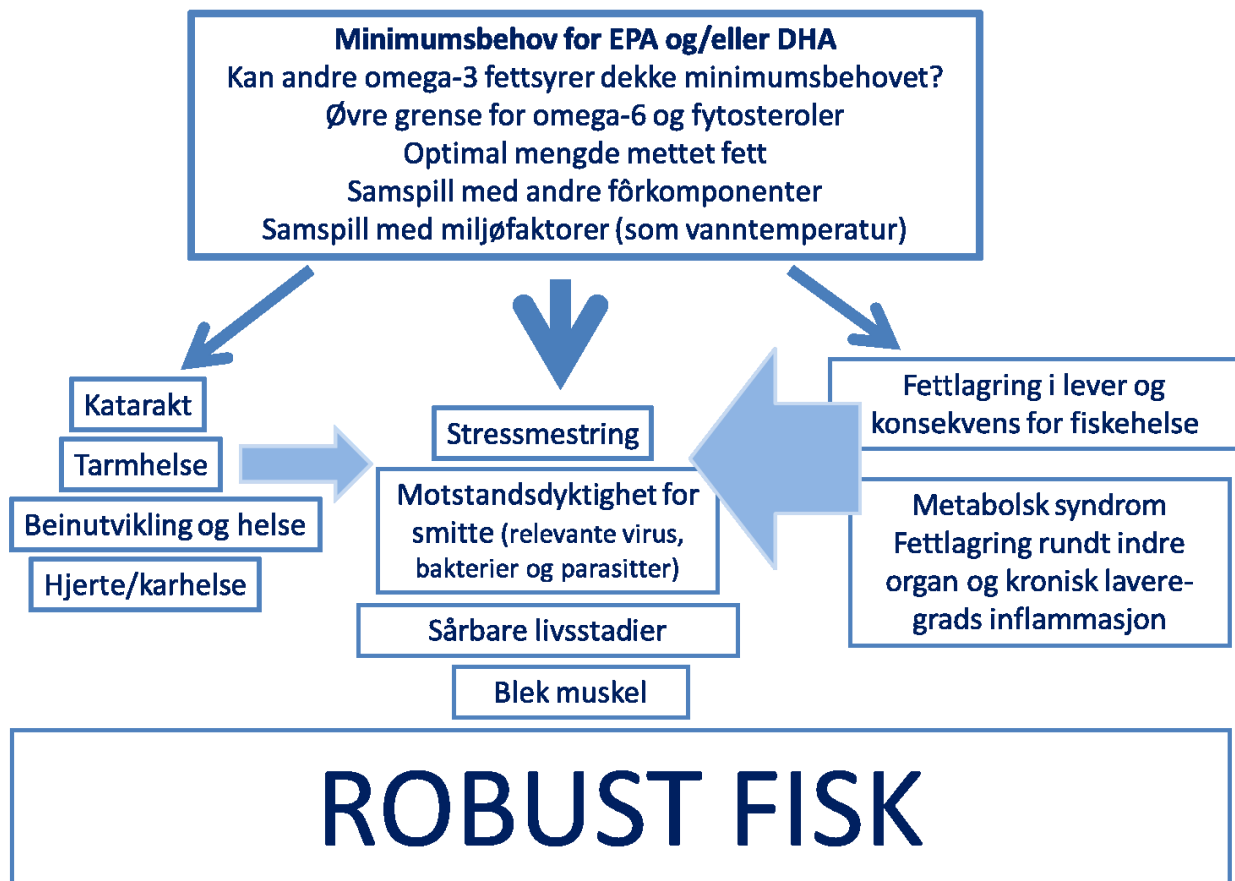
Figur 1. Viser gjeldende kunnskap for EPA og DHA behov for laks gjennom sjøvannsfasen, inndelt i for lavt nivå (rødt område), usikkert nivå (oransje område) og trygt nivå (grønt område). Resultater fra langtidforsøk utført i kar på land vises over pila, og fra langtidforsøk i merder i sjø under pila. Det er indikasjoner på at behovet for EPA og DHA til en viss grad kan påvirkes av andre komponenter i fôret som totalt fettnivå og nivå av omega-6 fettsyrer.

Andelen EPA og DHA som inkorporeres i cellemembranene påvirkes også av mengden omega-6 fettsyrer i fôrene, slik at behovet for EPA og DHA for å sikre en robust fisk antakelig øker når andelen omega-6 i fôret øker. For noen av helse- og velferdsutfordringene diskutert i denne rapporten ser det ut til at økende innhold av omega-6 eller balansen mellom omega-6 og omega-3 i fôrene kan være like viktig som nivå av EPA og DHA.

Ernæringsrelaterte helse- og velferdsutfordringer i oppdrett (Figur 2)

Smitteforsøk viser indikasjoner på at EPA eller EPA+DHA påvirker **sykdomsutvikling** for ulike inflammatoriske virussykdommer, men den praktiske betydningen av disse resultatene må avklares. I tillegg er det indikasjoner på negative samspillseffekter med høyt fettnivå i fôret, økt fettakkumulering i fiskens indre organer og effekter av omega-6 fettsyrer. Det er også vist positive effekter av mettet fett og /eller n-6/n-3 ratio (EPA og DHA var konstant) i smitteforsøk med pankreassykdom, noe som tyder på at det kan være rom for å forbedre utfall ved å endre fôrets fettsyresammensetning også uten å øke EPA og DHA. For både **katarakt** og **benutvikling**, viser forskningen så langt at oljekilden i tidlige livsfaser har betydning, mens etter sjøvannsutsett ser man ingen negative effekter av høy innblanding av vegetabilsk olje. **Fettdeponering i lever** og rundt indre organer kan øke med lite EPA og DHA i fôret, men her spiller også genetikk, temperatur og andre komponenter i fôret inn. Det oppstår inflammasjon i **tarm** når EPA og DHA er under minimumsbehov, men nivåer på 1,4% og oppover ser ikke ut til å gi økt risiko for fettakkumulering eller inflammasjon. Når det gjelder **stress** og stressmestring tyder forskningen så langt på at innhold av både omega-6 og EPA og DHA i fôret har betydning, men det er behov for grunnleggende kunnskap omkring mekanismene bak stressrespons hos laks og hvordan disse påvirkes av membranens fettsyresammensetning, inkludert eikosanoid-syntese. Både stress og lavt EPA og DHA-nivå i fôr ser ut til å redusere **pigmentering** i laksefisk, noe som er rapportert som et økende problem de siste årene.

(En mer detaljert oppsummering av kunnskapsstatus og kunnskapsbehov for de ulike helseutfordringene finnes etter hvert delkapittel).



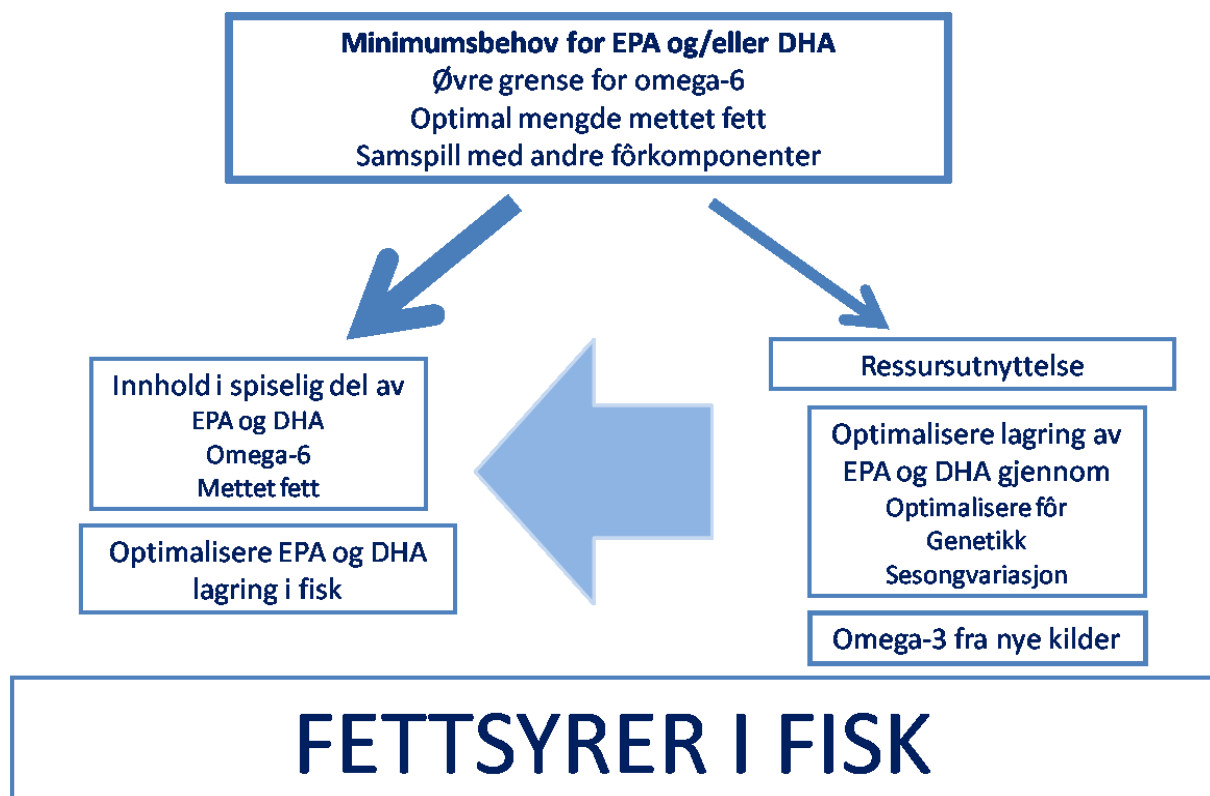
Figur 2; Oppsummert fiskehelse og velferdstilstander som er vist at påvirkes av fettsyresammensetning i fôret, og kunnskapsbehov for å sikre produksjon av robust fisk med endret fettsyresammensetning i fôret.

Hvordan påvirker endringer av fett i fôr mengden i spiselig del (Figur 3)

Siden 2005 har mengden EPA og DHA i oppdrettslaks gått ned, mettet fett har gått ned og mengden omega-6 fettsyrer har gått opp. Selv om EPA og DHA muligens vil gå videre ned i årene som kommer, vil oppdrettslaks fortsatt være en god kilde til EPA og DHA, da laks i sjøvannsfasen har et behov for EPA og DHA i fôret >1% av fettsyrene. Dette begrenser hvor langt ned man kan gå i nivå av EPA og DHA i fôrene, samt at laks konserverer disse fettsyrene når det er lite i fôret.

Det er stort potensial til å optimalisere retensjon av EPA og DHA i laks. Laksen kan være en netto produsent av DHA og i noen tilfeller EPA, men de høyeste retensjonstallene oppnås ved EPA+DHA nivå <1% av fôret, og da blir ikke laksens eget behov for optimal vekst og helse ivaretatt. ALA (18:3n-3) må selvfølgelig være tilstede for å få en produksjon av EPA og DHA,

men å øke nivå av ALA fra 5 til 10% av fettsyrene i fôret gir ingen økning i retensjon. Det meste av enumettet og mettet ser ut til å ha liten/ingen betydning for retensjon av EPA og DHA, med unntak av den marine 22:1n-11 som har en positiv effekt. Omega-6 er også vist å ha en svak positiv effekt. Det er usikkert hvordan nye omega-3 kilder, som f.eks alger og genmodifiserte oljer, som ofte kun inneholder én omega-3 fettsyre (enten EPA eller DHA) vil påvirke retensjon. Det er også gode indikasjoner på at en kan utnytte sesongmessige variasjoner, ulike stadier i livssyklus og fiskens genetikk for å få en **maksimal retensjon av EPA og DHA**.



Figur 3; Oppsummert kunnskapsbehov om sammensetning av fettsyrer i filet og optimalisering av EPA og DHA mengde i fisk ved endret fettsyresammensetning i fôret.

Identifiserte kunnskapshull:

- Vi trenger økt kunnskap om EPA og DHA behov i ulike livsfaser og under utfordrende miljøbetingelser inkludert sykdom, samt hvordan sammensetningen av fôret for øvrig påvirker inkorporering av EPA og DHA i membranene og dermed påvirker behovet, slik at man kan få optimal utnyttelse av en knapp ressurs. Da fremtidens alternative kilder til EPA og DHA hovedsakelig vil inneholde én av disse fettsyrene, er det

nødvendig å bestemme behov for disse fettsyrene separat, vurdere i hvilken grad det er nødvendig å tilsette begge i fôret og hvilke som deponeres i størst grad.

- Barrierervev som skinn og tarm konserverer EPA og DHA i mindre grad enn f.eks hjerte og lever. Disse vevene er første forsvar mot omgivelsene og vi mangler kunnskap om den fysiologiske betydningen av lave nivå av EPA og DHA i disse vevene.
- Det er behov for mer kunnskap om hvordan både omega-3 og omega-6 fettsyrer og balansen mellom disse påvirker laksens evne til å håndtere stress, spesielt med økende og fluktuerende temperaturer og økende grad av håndtering av fisken pga avlusing og andre arbeidsoperasjoner.
- Effekten på pigmentering (astaxanthin i muskel) av fôrets fettsyresammensetning inkludert EPA og DHA må avklares, inkludert eventuelt samspill med stress. Økt kunnskap omkring mekanismene som regulerer opptak og omsetning av pigment i laksefisk vil være viktig her.
- Med stadig lavere innhold av mettet fett i fôret er det nødvendig å avklare hvilken rolle mettet fett spiller for fiskens helse, inkludert motstandsdyktighet mot sykdom, og eventuelt etablere en nedre grense for innhold i fôret.

English summary

This report summarizes current knowledge of minimum dietary requirement of the long-chain omega-3 fatty acids EPA (eicosapentaenoic acid, 20:5n-3) and DHA (docosahexaenoic acid, 22:6n-3) for Atlantic salmon and rainbow trout to avoid reduced performance related to growth and fish health. When marine oils decrease in fish feed they have to be replaced by other lipid sources. The lipid content of the feed also changes through the lifecycle of the fish. Thus, it is equally important to assess interactions with changes in total lipid level, omega-6, saturated- and monounsaturated fatty acids and phytosterols. The selection of alternative oil sources in fish feeds of the future should be made based on nutrient requirements and tolerable limits for the different fatty acids. Since fats and specific fatty acids are central in many biological functions, changes in dietary fatty acid composition may affect growth, development and fish health in many areas. Where data are conflicting or insufficient/lacking, this report will identify knowledge gaps and research needs.

Minimum requirement for EPA and DHA (Figure 1)

Published studies on Atlantic salmon and rainbow trout in the freshwater phase indicate a minimum requirement of EPA and DHA of 1% of the feed to avoid reduced growth. As relatively small amounts of feed are used in this phase, the salmon are given high levels of fish meal and fish oil in commercial diets, more than covering the minimum requirement. Consequently, the research effort in recent years has focused on requirement in the seawater phase (summarized in Figure 1). Recent results show that low EPA+DHA levels in salmon feed generally do not affect health and performance negatively if the experiment is short-term and conducted under controlled conditions (land-based tanks), as the salmon has high ability to conserve EPA and DHA in important organs and tissues (Ruyter et al., 2016). Two long-term trials conducted in land-based tanks during the seawater phase show that salmon needs about 1% EPA and DHA of the feed for optimal growth and to maintain DHA levels in important tissues such as red blood cells, retina and brain (Rosenlund et al., 2016, Sissener et al., 2016). Despite effects on DHA levels in these tissues, lipid accumulation in liver and plasma cortisol, mortality was not increased at levels down to 0.5% of the feed, with a survival rate of ~99% in all diet groups. In contrast to this, results from salmon held in net pens in the sea showed that 1% dietary EPA and DHA was not sufficient under demanding environmental conditions (Ruyter et al., 2016, FHF #900957). Salmon fed 1% or less EPA and DHA had significantly higher mortality than salmon fed 1.7% of these fatty acids in the feed, when the salmon were subjected to repeated handling stress including delousing at high water temperatures. Low levels of dietary EPA and DHA also caused reduced levels of astaxanthin in muscle, increased lipid accumulation in liver and viscera, compressed vertebrae and histological changes in the mid intestine. To ensure a robust salmon in the sea, which can handle treatment and natural variations in farming conditions, these data indicate that the salmon need more than 1% EPA and DHA in the feed to cover their requirement (Ruyter et al., 2016). In another trial (Sissener et al., submitted manuscript, CAC 2012G), a reduction of dietary EPA and DHA from 2.6 to 1.6 % through the entire seawater phase in a commercial scale production of salmon gave no reduction in growth or survival, despite repeated delousings, as well as an outbreak of pancreas disease and gill infections. The results from all these experiments show a minimum requirement of EPA and DHA in the seawater phase of >1% of the feed. Below this level we see reduced growth and a number of health effects, including high mortality when exposed to demanding environmental conditions. EPA and DHA levels of 1.6% of the feed and higher seem to be safe,

although there are indications that higher levels than this can be positive in some disease situations. Levels between 1,1 and 1.6% do not cause problems in long-term trials in land-based tanks, but we lack data to conclude regarding these levels in open net pens at sea.

The amount of EPA and DHA which is incorporated into the cell membranes is also affected by the amount of omega-6 fatty acids in the feeds, and thus the requirement of EPA and DHA to maintain a robust fish probably increases as the amount of omega-6 fatty acids increases in the feed. For some of the health- and welfare challenges discussed in this report, it seems that an increasing content of omega-6 fatty acids or the balance between omega-6 and omega-3 fatty acids in the feeds, is equally important as the level of EPA and DHA.

Nutrition related health and welfare challenges in salmonid farming (Figure 2)

Disease challenge trials indicate that EPA or EPA and DHA can affect the **development of disease** for inflammatory viral infections, but the practical relevance of these data needs to be clarified. Additionally, there are indications of negative interactions with high lipid levels in the feed, increased lipid accumulation in viscera and effects of omega-6 fatty acids. Positive effects of saturated fats and/or reduced n-6/n-3 ratio (EPA and DHA were constant) have also been shown in a challenge trial with pancreas disease, indicating that there are possibilities to improve the outcome by changing the feed fatty acid composition also without increasing EPA and DHA. For both **cataract** and **bone development**, research so far shows an effect of the oil source in early life stages, while after seawater transfer high inclusion of vegetable oils do not cause any problems. **Lipid accumulation** in liver and viscera can increase with decreased EPA and DHA in the feed, but factors such as genetics, temperature and other components in the feed also play a role here. EPA and DHA levels below minimum requirement causes inflammation in the **intestine**, but levels of 1,4% or more do not seem to increase the risk of inflammation or lipid accumulation. Regarding **stress** and managing stress, data so far suggests an effect both of dietary omega-6 fatty acids and EPA and DHA, but there is a need for basic knowledge regarding the mechanisms around stress response in salmon and how these are influenced by membrane fatty acid composition, including eicosanoid synthesis. Both stress and low dietary EPA and DHA seem to reduce **pigmentation** in salmonids, which has been reported as an increasing problem in recent years.

(A more detailed summary of current knowledge and knowledge gaps for the different health challenges are found at the end of each chapter in the report).

How dietary fatty acids affect the fillet fatty acid composition (Figure 3)

Since 2005, the amount of EPA and DHA in Norwegian farmed salmon has decreased, saturated fats have decreased, and omega-6 fatty acids have increased. Even if EPA and DHA possibly will decrease further, salmon will remain a good source of EPA and DHA, as salmon in seawater has a requirement of >1% of the fatty acids, which limits how far the levels in the feeds can be reduced, and salmon also conserve these fatty acids well when the dietary content is low.

There is large potential to optimize the retention efficiency of EPA and DHA in salmon. The salmon can be a net producer of DHA and in some cases EPA, but the highest retention efficiency numbers are obtained at dietary levels <1% of the feed, meaning that the salmon's own requirement for optimal growth and health are not maintained. ALA (18:3n-3) needs to be present to have a production of EPA and DHA, but to increase the amount of ALA from 5 to 10% of the fatty acids in the feed did not affect retention efficiency. Monounsaturated and saturated fats seem to have little or no impact on the retention of EPA and DHA, except the marine fatty acid 22:1n-11 which has a positive effect. Omega-6 fatty acids also have a weak positive effect. It is uncertain how new omega-3 fatty acid sources, for instance algae or genetically modified oils, which often are rich only in one omega-3 fatty acid (either EPA or DHA) will affect retention efficiency. There are also good indications that seasonal variations, different stages in the lifecycle and the genetic background of the fish can be used to **maximize retention efficiency of EPA and DHA**.

Identified knowledge gaps:

- We need increased knowledge about EPA and DHA requirement in different life stages and under challenging environmental conditions including disease, as well as how other aspects of the feed affect incorporation of EPA and DHA into the membranes and thus requirement, to ensure optimal utilization of a limited resource. As the future alternative sources of EPA and DHA mainly will contain one of these fatty acids, it is important to

determine the requirement of each one separately, if it is necessary to add both in the feed, and which one is retained to the greatest extent.

- Barrier tissues like skin and intestine conserve EPA and DHA to a lesser extent than for instance heart and liver. These tissues are the first line of defense against the external environment, and we lack knowledge regarding the physiological consequences of low levels of EPA and DHA in these tissues.
- There is a need for more knowledge regarding how both omega-3 and omega-6 fatty acids and the balance between these affect the ability of the salmon to handle stress, especially with fluctuating temperatures and increasing handling of the fish due to delousing etc.
- The effect on pigmentation (muscle astaxanthin) by feed fatty acids, including EPA and DHA, needs to be clarified, including potential interactions with stress. Increased knowledge on mechanisms regulating absorption and turnover of pigment will be of importance here.
- With gradually decreasing levels of saturated fats in the feed, it is important to investigate what role saturated fat plays in fish health, including disease resistance, and establish a minimum level for feed content.



Innledning

Det er forventet at endringer i fettsyresammensetningen i fôret til laks og ørret vil ha konsekvenser for fiskens vekst, utvikling og helse. Grunnen er at fett og fettsyrer er helt sentrale for en rekke biologiske funksjoner, som for eksempel regulering av cellenes oppbygging og avlesing av arvematerialet. Hvilke konsekvenser endringer i fettsyresammensetning i fôret har for fiskens helse og velferd avhenger blant annet av fiskens minimumsbehov for EPA og DHA. Definisjon av minimumsbehov for næringsstoff for human helse har endret seg fra å definere minste mengde av f.eks omega-3 fettsyrer for å unngå underutvikling av hjernen (alvorlig mangel) til minimumsbehov for å kunne forebygge utvikling av ulike livsstilssykdommer, som hjerte/kar sykdom. Man kan trekke linjene fra human ernæring til fiskeernæring for definisjon av *minimumsbehov, som bør være et trygt laveste innhold som sikrer fisken god helse og velferd.*

Fiskemel og fiskeolje har en god næringsstoffsammensetning for oppdrettsfisk og bidrar blant annet med EPA og DHA. I tillegg til å være hovedingredienser i fiskefôr frem til for ca 10-15 år siden, har fiskemel og fiskeolje gjennom historien blitt brukt som brensel, som ingrediens til annet dyrefôr og til å lage margarin ved å hydrogenere det umettede fett, med bakgrunn i at disse tidligere både var rimelige og lett tilgjengelige råvarer. Dagens råvaresituasjon tilsier at det er vanskelig å videreutvikle en bærekraftig produksjon av laks og ørret med et fôr som hovedsakelig er basert på marine oljer (FAO 2004-2010). I dag er fiskemel og fiskeolje produsert fra villfisk som er en stabil, men begrenset ressurs. En global vekst i sjømatproduksjonen forutsetter dermed lavere andel villfisk som råvare i fiskefôr. En naturlig konsekvens av en reduksjon av fiskemel og fiskeolje i fôr er en reduksjon av EPA og DHA i oppdrettsfisken. Årsaken er enkel; i dag er det ingen reelle alternative kilder til EPA og DHA til bruk i fiskefôr. Noen år frem i tid vil det veldig sannsynlig være nok tilgjengelig EPA og/eller DHA i form av oljer fra marine mikroalger og genmodifiserte planter som kan brukes i fiskefôr. Dagens realitet er at fiskens ernæringsmessige minimumsbehov for EPA og DHA for optimal vekst og for å unngå redusert helse og velferd vil angi hvor lite fiskeolje og fiskemel fôret kan inneholde. Noe som igjen vil være førende for vekstpotensialet til oppdrett av laks og ørret de nærmeste årene. Det er derfor avgjørende å vite hva som er det trygge nedre nivå av EPA og DHA i fôr til oppdrett av laks og ørret. En dimensjon som er like viktig som minimumsbehov for EPA og DHA er hvilke andre fettsyrer fôret bør inneholde når mengden av det marine fett reduseres. Da må vi tilsvarende som for EPA og DHA vite effektene på fiskens vekst, helse og velferd av omega-6 fettsyrer, mettet fett, enumettet fett og andre omega-3 fettsyrer i fôret.

Hva er kjent om minimumsbehov for EPA og DHA i laks og ørret?

Ferskvannsfasen

Samlet tidligere publisert materiale for regnbueørret og laks i ferskvannsfasen, tyder på et behov for minimum 1% EPA og DHA i fôret for å unngå redusert tilvekst (Ruyter m.fl., 2000 a,b, oversiktsartikkel Glencross 2009, FHF rapport Torstensen m.fl. 2013). Laks og ørret i kommersiell oppdrett, føres i dag hovedsakelig med høy andel fiskemel og fiskeolje i ferskvannsfasen og fôret har dermed nivåer av EPA og DHA godt over minimumsbehovet. Når fisken er liten konsumeres relativt små volum av marine ingredienser, noe som innebærer at man prioriterer å sikre laksen en god start med depoter av EPA og DHA i ferskvannsfasen. Fortsatt er mye ukjent om hvordan føring i tidligste livsfaser påvirker laksens metabolisme og helse i senere livsfaser.

Sjøvannsfasen

Det finnes få grundige behovsstudier i sjøvannsfasen fra smolt-stadiet til stor produksjonsfisk for laks og ørret. I et nylig forsøk ble Atlantisk laks fôret med et fiskeoljefritt og fiskemelfritt basisfôr med enten 0%, 0,5%, 1%, 1,5% og 2% EPA, DHA eller en kombinasjon av EPA og DHA¹ (1:1). I forsøket var det også inkludert en kontrollgruppe fôret med tilnærmet kommersiell førsammensetning. Fisken ble fulgt på disse 14 ulike diettene fra den var 40 gram til den var 400 gram i sjøvann (Bou m.fl., 2016, manuskript). Forsøket viste ingen store forskjeller i tilvekst eller dødelighet mellom de eksperimentelle gruppene og kontrollgruppen, med unntak av noe redusert vekst i gruppen med 0% EPA og DHA i fôret. Laksens evne til egenproduksjon av EPA og DHA fra den kortere omega-3 fettsyren 18:3n-3, var relativt høy når EPA og DHA utgjorde under 1% av fôret. Ved høyere nivå av EPA og DHA i fôret ble denne kapasiteten kraftig redusert. Det ble observert store endringer i fettsyresammensetningen av laksens ulike vev og organer over tid. Hjerne, hjerte og lever konservative i større grad EPA og DHA i fosfolipider enn tarm, muskel og spesielt skinn. Når nivåene av EPA og DHA reduseres i de ulike membranfosfolipidene, så erstattes de i stor grad av betennelsesfremmende omega-6 fettsyrer. I FHF prosjektet 900957 (Ruyter m.fl., 2016) ble fisken fra de 14 ulike pre-diettgruppene fulgt videre i sjø på henholdsvis 0,2%, 1% og 1,7% EPA og DHA² i fôr fram til slaktestørrelse på ca. 3,5 kg. Resultater fra prosjektet tyder på at 1 % EPA og DHA i fôret, et nivå som tidligere var ansett som nedre behovsnivå, er for lavt til at fisken kan opprettholde

¹ Fettprosent i fôr 25%, EPA+DHA 0,1-11% av fettsyrer, n-6/n-3 ratio 4,3-1,3

² Fettprosent i fôr 33%, EPA+DHA 0,7-6% av fettsyrer, n-6/n-3 ratio 1,8-0,8

god helse under krevende miljøbetingelser. Laks fôret på 0,2% og 1% EPA og DHA, døde i betydelig større grad enn laks fôret med 1,7% av disse fettsyrene i fôret når fisken ble utsatt for gjentatt håndteringsstress som avlusning ved høye vanntemperaturer. EPA og DHA nivåer $\leq 1\%$ av fôret førte bl.a. også til redusert nivå av astaxanthin i muskel, økt mengde fett i lever og rundt innvoller, manglende virvelmellomrom i ryggrad og histologiske endringer i midttarm. For å sikre en robust laks i sjø som tåler den håndteringen den møter under naturlig variasjoner i oppdrettsbetingelser, så tyder dataene fra dette prosjektet på at oppdrettslaksen må ha over 1 % EPA+DHA i fôret for å dekke sitt behov.

I overensstemmelse med dette, så er det er også, i en studie av Glencross m.fl., 2014, vist at økende nivå av DHA i fôret fra 0,1%, 0,5%, 1%, 1,5% til 2%³, gav tendens til økt overlevelse i laksegruppene fôret mer enn 1% DHA i fôret.

To nylige langtids fôringsforsøk i sjøvann har blitt kjørt med 10 % fiskemel i fôr og EPA+DHA nivåer fra 0,4 - 2,3 % av fôret⁴ (Rosenlund m.fl., 2016). I det første forsøket gikk fisken på de fem ulike forsøksfôrene (0,5, 0,9, 1,1, 1,4 og 1,7 % EPA+DHA av fôr) fra fisken var ~160 g til ~3000 g, og perioden fra ~1450 g og utover ble fisken i hvert kar fordelt i to nye kar og fortsatt på henholdsvis 12°C og 6°C (den totale fôringsperioden var henholdsvis 12 og 14 måneder). Det ble observert at en 7-dobling av kroppsvekt var nødvendig før EPA og DHA-innhold i filet hadde stabilisert seg i forhold til dietten, noe som viser nødvendigheten av langtidsforsøk for å studere minimumsbehov av EPA og DHA. I det andre forsøket gikk fisken på en felles «innkjøringsdiett» med 1,0 % EPA+DHA fra den var ~450 g til ~1450 g, før fisken ble gitt fire ulike forsøksfôr (0,4, 0,9, 1,4 og 2,3 % EPA+DHA) fram til en sluttvekt på ~3000 g, ved 12°C. Begge disse forsøkene viste at 0,9 % EPA+DHA ikke var tilstrekkelig for optimal vekst i sjøvannsfasen for Atlantisk laks (Rosenlund m.fl., 2016), men også at langtidsforsøk var nødvendig for å demonstrere disse forskjellene. Fisken som fikk $\leq 0,9$ % EPA+DHA hadde også redusert innhold av DHA i røde blodceller og netthinne, mens vi så en effekt også på DHA innhold i hjerne ved 0,5% EPA+DHA (Sissener m.fl., 2016). Effektene på netthinne og hjerne forekom imidlertid kun på 6°C og ikke på 12°C, noe som indikerer et høyere behov for å opprettholde vevsstatus ved lav temperatur. Disse diettene hadde 18:3n-3 fra linfrø- og rapsolje, og det var tydelig at fisken økte egenproduksjonen av EPA og DHA fra 18:3n-3 (ALA) når det var lite EPA og DHA i fôret, spesielt var økningen markant ved EPA+DHA $< 1\%$ av fôret (med

³ 18-20% fett i fôrene, EPA+DHA 0.9-8.0% av fettsyrer, n-6/n-3 ratio 4.2-1.3

⁴ ~35% fett i fôrene, EPA+DHA 1.3-7.4% av fettsyrer, n-6/n-3 ratio 1.1-0.7

retensjonsverdier for DHA opp mot 200%). Dermed er det rimelig å anta at behovet for EPA og DHA i fôret vil være høyere dersom man benytter alternative fettkilder i fôret med lite/ingen ALA (dette blir diskutert i detalj i kapittelet om retensjon).

I et fullskala forsøk i sjø, utført ved Centre for Aquaculture Competence (CAC 2012G), ble Atlantisk laks gitt fôr med henholdsvis 2.6 og 1.6% EPA+DHA⁵ i fôr i gjennomsnitt gjennom hele produksjonssyklus i sjø fra ~90 g til 5000 g (Sissener m.fl., innsendt manuskript). Det var ingen forskjell i vekst mellom de to gruppene, og på tross av fem avlusninger, utbrudd av pankreassykdom og betydelig dødelighet fra gjelleinfeksjoner var det heller ingen signifikante forskjeller i dødelighet. Dette, kombinert med lik DHA status i røde blodceller, tyder på at fisk i begge diettgruppene fikk dekket sitt behov for EPA og DHA. Imidlertid hadde gruppen som fikk 1.6% EPA+DHA økt prevalens av melaninflekker i muskel, noe som kan være relatert til inflammasjon og høyere n-6/n-3 ratio.

Det finnes en rekke tidligere studier som har vist at fullstendig eller delvis utskifting av fiskeolje med en enkelt planteolje, for eksempel rapsolje, palmeolje, linfrøolje, eller soyaolje, i deler av eller gjennom hele produksjonssyklusen, ikke påvirker vekst negativt (oppsummert av Turchini m.fl., 2009). I disse eldre studiene ble det benyttet betydelig høyere nivåer av fiskemel i fôret enn i dagens kommersielle fôr, noe som bidrar med de essensielle fettsyrene EPA og DHA og dermed gjør at de eldre studiene ikke er like relevante for dagens situasjon.

I en studie gjennomført av Torstensen m.fl. (2008) ble 80% av fiskemelet erstattet med planteprotein (totalt 17% fiskemel+krillmel av fôret i de plantebaserte diettene) og 70% av fiskeoljen erstattet med planteoljemix (4:2:1 rapsolje, linfrøolje, palmeolje) i fôr til laks gjennom 12 mnd i sjøvannsfasen (EPA og DHA nivå i fôr var ca 2,5%). Forsøket viste 17% lavere sluttvekt i fisk fôret med høyt nivå av planteingredienser sammenlignet med laks fôret med fiskemel og fiskeolje, noe som ble forklart av lavere fôrinntak i første del av forsøket. Liland m.fl. (2013) viste at når fiskemelinnblanding var redusert og konstant for alle fôrgrupper (18% fiskemel av resept) og med Skrettings Microbalance[®], var det ingen signifikant effekt på vekst eller dødelighet i løpet av 6 mnd når EPA og DHA i fôret ble redusert fra 5,3% (100% FO) til 1,4% (20% FO). Derimot ga høy omega-6 fra soyaolje redusert fôrinntak og noe lavere vekst, dog ikke signifikant (Liland m.fl., 2013).

⁵ EPA+DHA: 1.6/2.6% av fôret, ~34% fett i fôrene, EPA+DHA 5.2/8.2% av fettsyrer, n-6/n-3: 1.3/1.0

I et forsøk i sjø (Mørkøre m.fl. FHF rapport 2013) økte dødelighet av laks som fikk et fôr der oljefraksjonen bestod av 70% rapsolje (EPA og DHA, 2,8% av fôret) sammenlignet med 30% rapsolje (EPA og DHA 7% av fôret). Laksen ble håndtert mye i løpet av forsøksperioden på syv måneder, med gjentatte individveiinger og andre analyser av bedøvd, levende fisk. Laksen som fikk høy innblanding av rapsolje hadde også betydelig feitere lever (10% vs 6%), mer fettavleiring rundt innvollene og på hjertet, samt mer triglyserider i blod ved slakt i mars 2012 (slaktevekt 6 kg). Resultatene antyder at 70% rapsolje og 2,8% EPA og DHA nivå i fôret gjorde laksen mer sårbar for håndtering. I vinterperioden (desember-mars) var proteinnivået i fôret 35%, og der var 38% fett. Lav sjøtemperatur, kombinert med et lavt proteinnivå/høyt fettnivå i fôret og høyt nivå av rapsolje har trolig bidratt til økt fettakkumulering i slaktefisken. 35% protein er innenfor normalen for kommersielle fôr til fisk på over 2,5 kg (som regel mellom 33-37%), mens 70% innblanding av rapsolje heller ikke er uvanlig i dagens kommersielle fôr.

Selv om EPA og DHA innhold konsekvent er oppgitt som % av fôret i denne rapporten, er det vist i noen marine arter at behovet for essensielle fettsyrer øker med økende fettinnhold i fôret (Watanabe m.fl., 1982, Glencross m.fl., 2002). Det er usikkert om dette er tilfelle for laks, og dermed hvorvidt EPA og DHA innhold som % av fettsyrer eller % av fôr er best egnet til å forutse om behovet er oppfylt. Videre har vi vist at økende omega-6 i fôret gir redusert EPA og DHA i cellemembranene, på tross av at nivået av disse fettsyrene er konstante i fôret (Sissener m.fl., manuskript under bearbeiding). Da virknings-mekanismene for positive helseeffekter av EPA og DHA starter med inkorporering av disse i cellemembranene, vil det kanskje være **mer nyttig å etablere et minimumsnivå av EPA og DHA i membranene i ulike vev som er nødvendig for å ha en robust fisk, da nivå i fôret som trengs for å oppnå dette vil kunne variere med fôrets øvrige sammensetning.**

Resultater fra nyere langtidsforsøk tyder på en mindre robust fisk når EPA og DHA nivået i fôret er $\leq 1\%$ eller også når fett i fôret er for ensidig som f.eks med 70% rapsolje kombinert med lavt fiskemelsnivå. Laveste trygge nivå for en robust fisk i sjø utfra disse forsøkene er 1,6%. Nivåer mellom 1,1 og 1,6% skaper ingen problemer under optimale betingelser ved langtidsforsøk i kar, men vi mangler data angående robusthet for fisk i sjø. Det er fortsatt behov for ny kunnskap om samspillet mellom oljekilder i fôret og ytre miljøfaktorer for å sikre fiskens helse.

Faktaboks: Omregning mellom prosent av fôr og prosent av fettsyrer:

$\text{EPA+DHA i \% av f\ddot{o}r} = \text{EPA+DHA i \% av fettsyrer} * 0,93 * \% \text{ fett i f\ddot{o}ret (f.eks 0,33)}$

$\text{EPA+DHA i \% av fettsyrer} = \text{EPA+DHA i \% av f\ddot{o}r} / (0,93 * \% \text{ fett i f\ddot{o}ret)}$

0.93 er en korrigeringsfaktor som brukes fordi fett ikke bare består av fettsyrer, men «riktigheten» av denne korrigeringsfaktoren vil avhenge noe av andel TAG ift fosfolipider i fettfraksjonen.

For de fleste studier fra Nifes og Nofima inkludert i denne rapporten er EPA og DHA analysert både i % av fettsyrer, og som mg/g fôr (ved bruk av intern standard i fettsyreanalysen), men for publiserte studier der bare en av disse er oppgitt vil det kunne være nyttig å regne om for å få sammenlignbare tall.

Hvordan definerer vi ernæringsbehov i dagens intensive matproduksjon av laks og ørret?

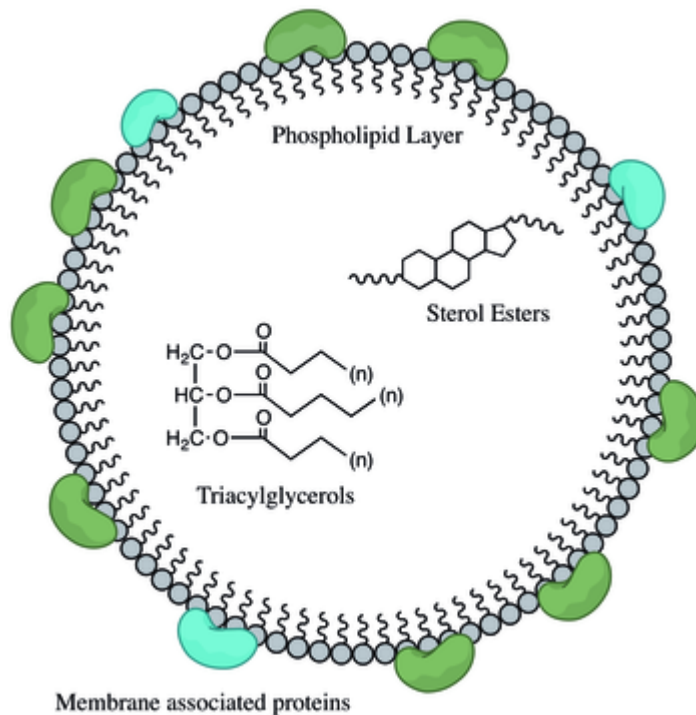
Ubalanse i sammensetningen av næringsstoff kan være en av flere mulige forklaringsfaktorer for 10-20% tap gjennom livssyklusen, som er vanlig i dagens kommersielle lakseoppdrett.

Årsakene til dødelighet kan være vanskelig å fastslå på grunn av mangfoldet av utfordringer i næringen. Kriteriene for fastsetting av ernæringsbehov er ikke klart definert. Frem til 2013 var ernæringsbehov hos fisk stort sett definert ut i fra tilvekst og overlevelse, noe som er en for begrenset definisjon. En definisjon av ernæringsbehov bør også omfatte informasjon om best mulig balanse mellom ulike næringsstoff/energikilder, og nivå som gir god ytelse i henhold til en rekke kriterier knyttet til vekst, fravær av symptomer på mangel og god fiskehelse (inkludert motstandskraft mot sykdom). Det er viktig å definere noen tidlige symptomer på sub-optimal ernæring, siden marginale mangeltilstander antagelig kan føre til økt helserisiko, selv når den ikke er manifestert ved åpenbare symptomer som redusert vekst og økt dødelighet. Dette er spesielt viktig under sub-optimale miljøforhold, som endringer i vanntemperaturer, stress og infeksjoner.

Man kan trekke linjene fra fiskeernæring til human ernæring der definisjon av ernæringsbehov har endret seg fra å definere minste mengde av f.eks omega-3 fettsyrer for å unngå underutvikling av hjernen (alvorlig mangel) til minimumsbehov av EPA og DHA for å kunne forebygge utvikling av ulike livsstilssykdommer, som hjerte/kar sykdom. *Tilsvarende for fisk bør minimumsbehov være et trygt laveste innhold som sikrer fisken god helse og velferd.*

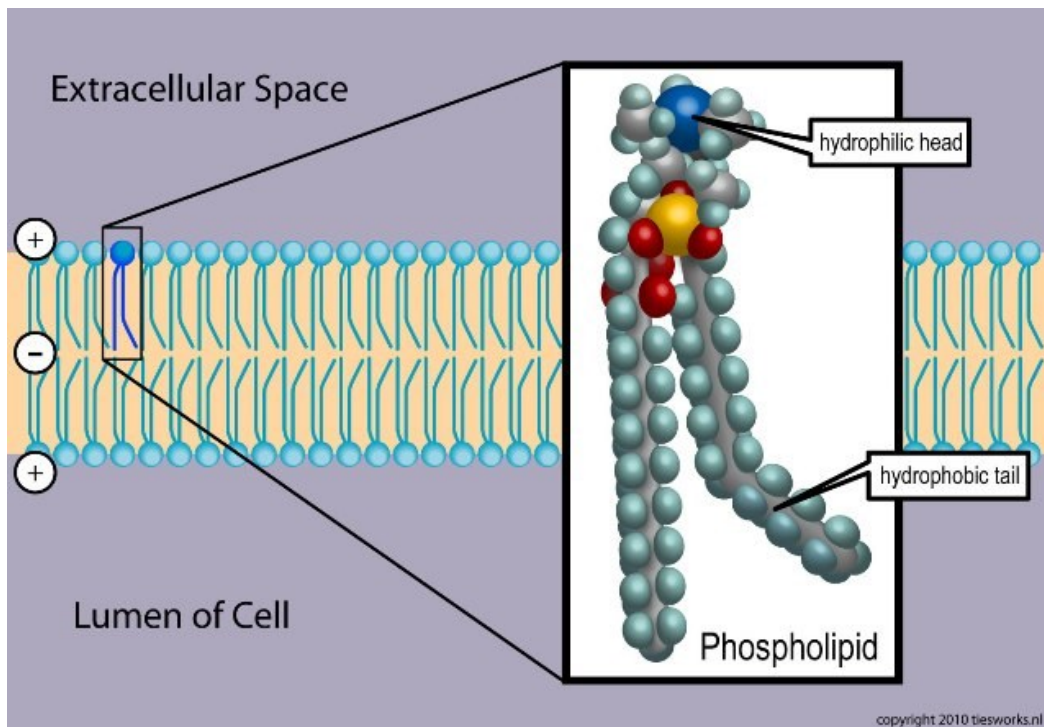
Hvorfor er fett viktig for fiskens helse og velferd? Kort om funksjon av fett:

Fett, som også kalles lipider, er en gruppe organiske molekyler som ikke er løselige i vann, men i ulike organiske løsemidler (metanol, etanol, kloroform osv.). Eksempler er triacylglycerol (TAG), kolesterol og fosfolipider. Fett i form av TAG fungerer som energikilde og energilager i kroppen, da det er det mest energitette av alle næringsstoffene og gir 9 kcal per g fett.



Figur 4; Fettdråpe med triacylglycerol (TAG) i kjernen som lager for energi i form av fett. Kilde: www.wikipedia.org

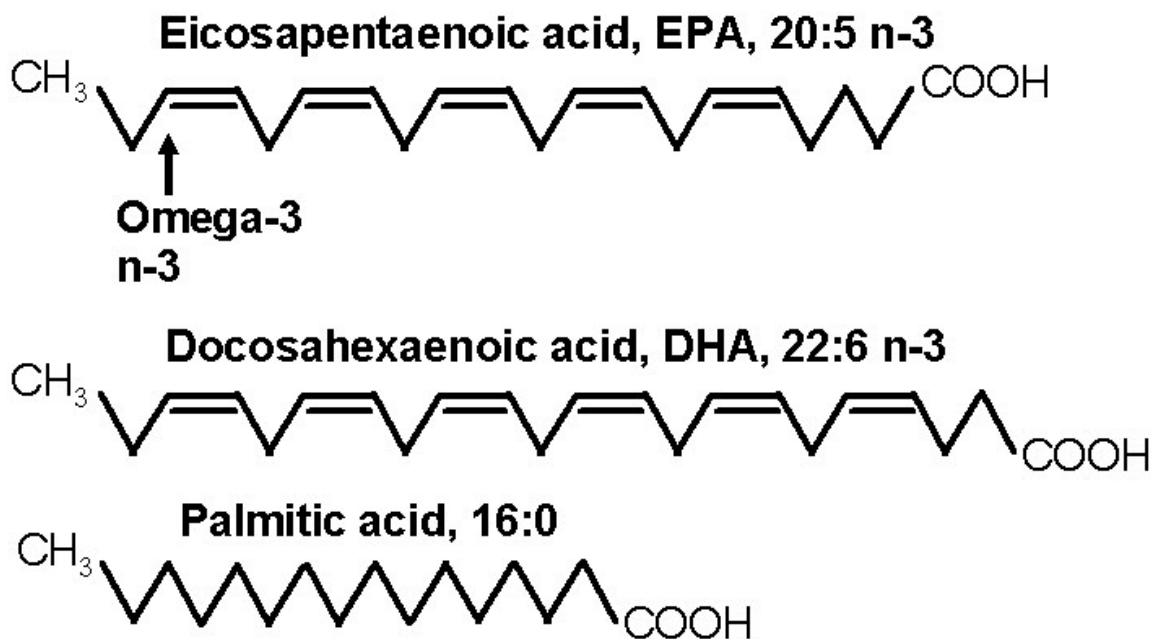
I tillegg har fett strukturelle roller blant annet i form av fosfolipider som er byggesteinene i alle cellemembraner, sammen med kolesterol. Fett er også forløpere for ulike hormoner og signalmolekyler, og fettsyrer kan binde til reseptorer i cellekjernen og regulere avlesing av DNA.



Figur 5; Fosfolipidenes strukturelle rolle i oppbyggingen av cellemembraner, som består av doble lag av fosfolipider med fettsyrener inn mot midten. Kilde: www.wikipedia.org

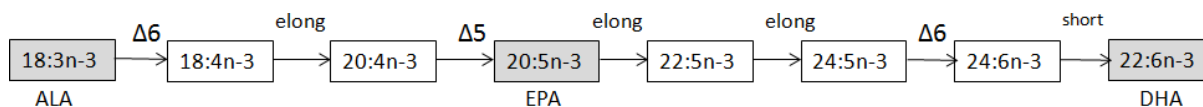
Navnsetting av fettsyrer

Fettsyrer er de viktigste byggesteinene i mange lipider. Fettsyrer er hydrokarbonkjeder med varierende antall karbonatomer. Dersom karbonkjeden er mettet med hydrogenmolekyler, har vi en mettet fettsyre. Hvis et hydrogen fjernes får vi en dobbeltbinding mellom to karbonatomer og får en umettet fettsyre, disse kan deles inn i enumettede og flerumettede. Fettsyrene navnes ut ifra hvor mange karbonatomer som er i karbonkjeden, hvor mange dobbeltbindinger som er i karbonkjeden og hvilken posisjon den første dobbeltbindingen har fra metylenden av karbonkjeden. Som eksempel har EPA 20 karbonatomer, 5 dobbeltbindinger og første dobbeltbinding er i 3-posisjon fra metylenden; det vil si navnsettingen blir 20:5n-3, og dette er en omega-3 fettsyre også kalt en n-3 fettsyre (Figur 6).



Figur 6; Navnsetting av fettsyrer

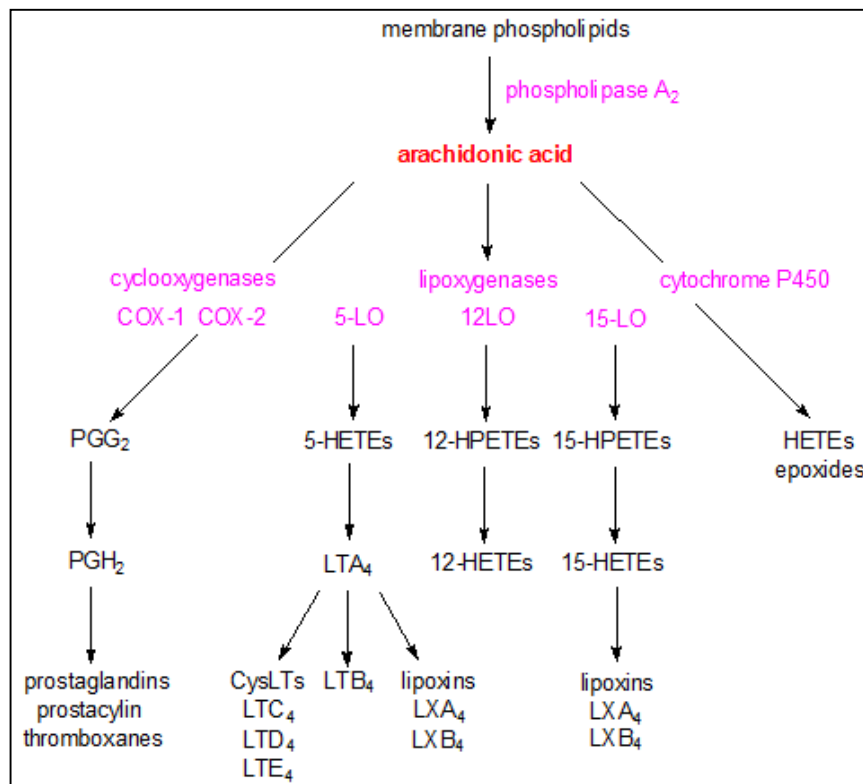
Noen fettsyrer er essensielle, det vil si at de må tilføres gjennom maten/fôret, da de ikke kan dannes i kroppen. For virveldyr er de flerumettede fettsyrene i omega-3 (18:3n-3, alpha-linolensyre, ALA) og omega-6 (18:2n-6, linolsyre, LA) familiene essensielle. I denne rapporten er det mest fokus på de langkjedede omega-3 fettsyrene (≥ 20 karbonatomer) EPA og DHA. Disse kan dannes i kroppen fra ALA, som er den korteste omega-3 fettsyren med 18 karbonatomer og tre dobbeltbindinger (Figur 7). Det varierer mellom ulike arter hvor effektiv denne omdanningen er, og om det er nødvendig å få noe EPA og DHA direkte gjennom kosten for å få dekket behovet.



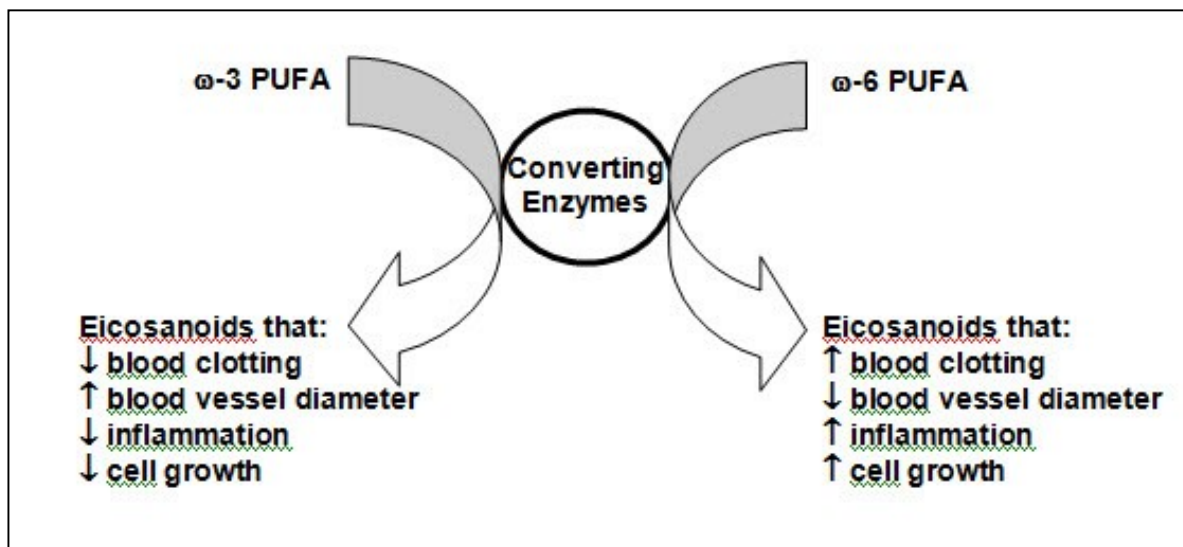
Figur 7; Syntese fra ALA (18:3n-3) til EPA (20:5n-3) og DHA (22:6n-3) går gjennom flere steg der dobbeltbindinger legges til (desaturering, ved hjelp av enzymene $\Delta 5$ - og $\Delta 6$ -desaturase) og der kjedelengden økes med to karbonatomer (elongering, ved hjelp av elongase-enzymet) og til slutt en forkortelse av karbonkjeden vha beta-oksidasjon.

Bioaktive funksjoner av fett

EPA som sitter i fosfolipider i cellemembranen fungerer som forløper til en gruppe signalstoffer i kroppen kalt eikosanoider (Figur 8), som f.eks inkluderer prostaglandiner og leukotriener. Det dannes også eikosanoider fra omega-6 fettsyren arakidonsyre (ARA, 20:4n-6). Eikosanoider fra henholdsvis omega-3 og omega-6 familien har ulike og i en del tilfeller motsatte effekter på biologiske funksjoner som blodplateaggregering, betennelse (inflammasjon) og immunrespons, og dermed er balansen mellom EPA og ARA i cellemembranene veldig viktig (Figur 8).



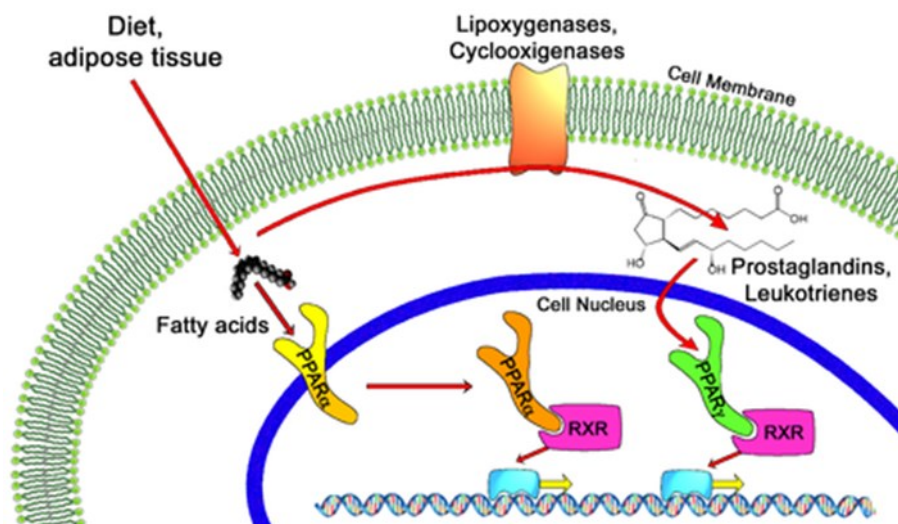
Figur 8; Eikanoïdsyntese i celler foregår via tre ulike enzymsystemer (cyklooxygenaser (COX), lipoxygenaser (LOX) og P450-systemet). Eikanoïder produsert fra disse tre systemene har ulike navn; Prostaglandiner, prostacycliner og thromoxaner produseres via COX-syntesevei. Leukotriener og lipoxiner produseres via LOX-syntesevei. Epoxider produseres via cytochrom P450. Kilde: www.lipidlibrary.aocs.org



Figur 9; Eikosanoider som dannes fra omega-3 fettsyrer har ofte en annen effekt på helse sammenlignet med eikosanoider dannet fra omega-6 fettsyrer. Her illustrert med eksempler på ulik effekt hos mennesker. Kilde: www.thenutritiondr.com.

DHA er spesielt en viktig strukturell fettsyre i nervevev. DHA finner vi mye av i vev som hjernen, netthinnen i øyet, gonader og de røde blodcellene. Både EPA og DHA finnes i høyest konsentrasjoner i de polare lipidene som fosfolipider, og i mindre grad i lagringsfett (nøytrale lipider; TAG). Dermed vil det ofte være hensiktsmessig og skille mellom nøytrale og polare lipider når man undersøker diettens påvirkning på fettsyresammensetning i ulike vev.

Mettede, enumettede og flerumettede fettsyrer er alle vist å direkte kunne regulere avlesingen av DNA i celler. Det skjer ved at en fettsyre binder til proteiner som dermed blir aktive og kan binde til DNA i cellekjernen og regulere avlesing og produksjon av proteiner i cellene (Figur 10). En ubalanse i fettsyrer i cellene kan dermed gi et endret genuttrykk som kan ha konsekvenser for helsen. Lipider som inneholder omega-6 fettsyren ARA (20:4n-6) er forløpere til endokannabinoider. Disse er bioaktive stoff som er mye mindre beskrevet enn eikosanoider, men som man så langt mener regulerer matinntak, energiomsetning og betennelse hos gnagere. Alvheim m.fl. (2013) vist at også laks produserer endokannabinoider, og at det blir mer i vev når laksen spiser soyaoljebasert fôr med mye omega-6 fettsyrer.



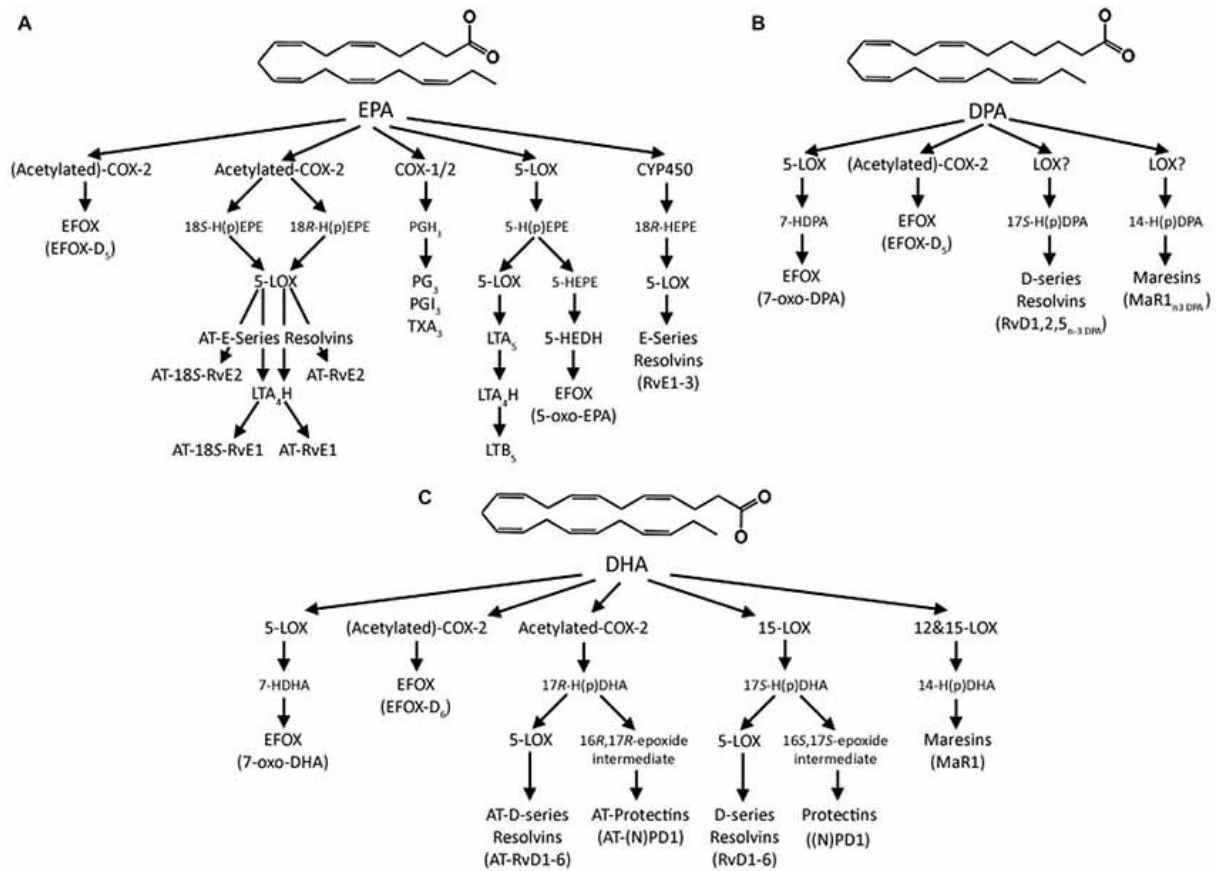
Figur 10; Et eksempel som viser hvordan fettsyrer fra fôr kan binde til proteiner som dermed blir aktive og regulerer avlesing av gener i DNA.

Metabolitter fra langkjedede omega-3 fettsyrer: Resolviner, protektiner og maresiner

En rekke studier har vist at langkjedede omega-3 fettsyrer har en gunstig effekt ved å dempe inflammasjonsresponsen. Det er vist at anti-inflammatoriske metabolitter som resolviner og protektiner kan dannes fra de langkjedede marine omega-3 fettsyrene. Figur 11 viser de bioaktive forbindelsene som dannes fra EPA (resolviner E-serien), DHA (resolviner D-serien, protektiner og maresiner) og DPA (resolviner D-serien) (Dynall 2015, Serhan m.fl., 2005). Dette er oksygenerte former av flerumettede C20 og C22 omega-3 fettsyrer, og de er vist å virke via en rekke celledoesifikke reseptorer.

Inflammasjonsrespons er en kompleks prosess som involverer flere ulike cellulære mekanismer. Fra pattedyr vet vi at når de hvite blodcellene granulocytter entrer et betent vev, så skjer det et skifte fra pro-inflammatoriske lipidforbindelser (for eksempel leukotriener og prostaglandiner) til de anti-inflammatoriske forbindelsene (for eksempel resolviner, protektiner og lipoxiner) (Serhan m.fl., 2000, 2002, Levy m.fl., 2001). Rekruttering av neutrofile leukocytter avtar, og resolviner, protektiner og lipoxiner fremmer økt makrofag-mediert fjerning av apoptotiske neutrofile leukocytter (Serhan m.fl., 2008). Protektiner og resolviner kan virke både ved å kontrollere varighet og intensitet av inflammasjonsresponsen. Det er hittil

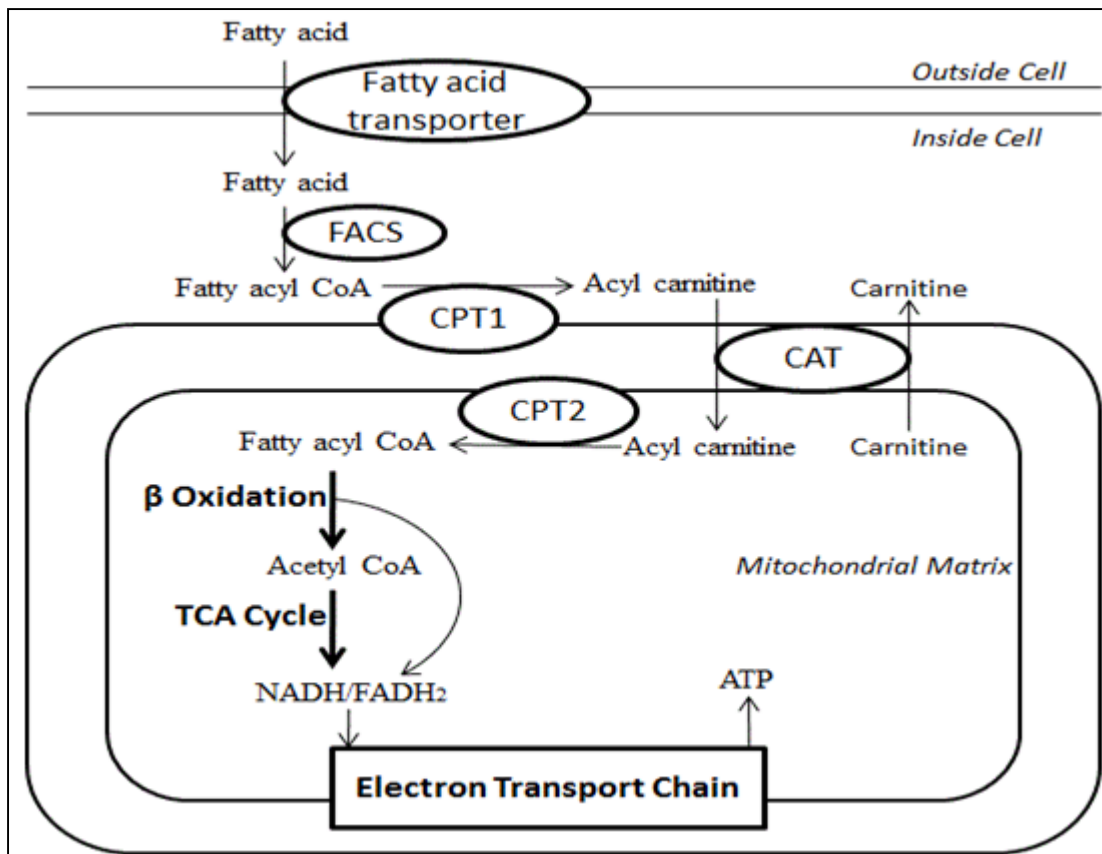
ukjent hvilken rolle de bioaktive komponentene resolviner, protektiner og maresiner spiller i inflammatoriske sykdommer i laks.



Figur 11 Oversikt over bioaktive lipidforbindelser dannet fra EPA (A), DPA (B) og DHA (C) (Dyall et al., 2015).

Fett som energisubstrat

Fett og fettsyrer er de mest energitette næringsstoffene, og karnivore dyr som laks og ørret forbrenner fett effektivt for å produsere energi. Forsøk gjort på stor laks tyder også på at de fettsyrene som laksen har i overskudd i fôret forbrennes mer effektivt (Stubhaug m.fl. 2007; 2005). Enkelte fettsyrer, som mettet fett, antas likevel å være foretrukket som energisubstrat. EPA og DHA er vist i gnagere å øke dyrets evne til å forbrenne fett (Madsen m.fl., 1999). Forsøk med leverceller fra laks tyder på tilsvarende mekanismer gjelder for EPA og DHA og fettforbrenning også hos laks (Kjær m.fl., 2008).



Figur 12; Fettsyrer transporteres inn i indre matriks av mitokondriene og blir brutt ned der til acyl-CoA enheter som går gjennom sitronsyresyklus (TCA cycle). Der produseres NADH/FADH₂ som går til elektrontransportkjeden i mitokondriemembranen og produserer energi (ATP). Kilde: www.lipidlibrary.aocs.org.

Karotenoider

Karotenoider er fettløselige forbindelser med en lang karbonkjede (C₄₀) av konjugerte dobbeltbindinger. De produseres i planter og sopp, og enkelte bakterier. Deres viktigste funksjoner i fotosyntetiserende organismer er å absorbere lys og å beskytte mot fotoksidasjon. Astaxanthin og andre karotenoider er vist å være svært effektive antioksidanter som har en rekke positive effekter på helse og immunforsvar i mennesker og pattedyr. Blant annet beskytter karotenoider mot utvikling av kreft, reduserer blodtrykket og uttrykk av betennelsesmarkører, har positive effekter på immunsystemet, øker insulinsensitivitet i lever, muskel og fettvev, reduserer akkumulering av fett i lever og motvirker dermed metabolsk syndrom (Elliot, 2005, Jia m.fl., 2012, Gammone m.fl., 2015, Sila m.fl. 2015). I tillegg til å direkte å uskadeliggjøre frie radikaler så viser nyere forskning at karotenoider inkludert astaxantin påvirker kroppens antioksidantforsvar gjennom å påvirke uttrykket av en rekke gener involvert i det intracellulære

forsvaret mot oksidative skader. Det er også stadig flere studier som viser en sammenheng mellom metabolismen av karotenoider og fett i pattedyr (Lobo m.fl. 2012). De fleste dyr, inkludert fisk kan omdanne karotenider til vitamin A og andre retinoider, som retinsyre. Retinsyre regulerer en rekke gener involvert i lipidmetabolisme (Bonet m.fl., 2012). I pattedyr er β -karoten det viktigste provitamin A karotenoidet, mens astaxanthin er vist å ha provitamin A-funksjon i fisk (Guillou m.fl., 1989; Moren m.fl., 2002; Schiedt m.fl., 1985). Mutasjoner i gener som er involvert i transport og metabolsk omsetning av karotenoider og vitamin A gir endret fettdeponering i mus (Hessel m.fl. 2007, Kim m.fl. 2015). Selv om det foreløpig er det lite dokumentasjon i fisk på helseeffekter av karotenoider er det noen eksempler: Lycopene, som er et karotenoid uten ringstrukturer som det finnes mye av i tomat er vist å ha positive effekter på antioksidantforsvaret i regnbueørret, særlig ved høy tetthet i karene (Yonar, 2012, Sahin m.fl. 2014). Mekanismene er de samme som er vist i pattedyr, via transkripsjonsfaktoren Nrf2 og såkalte antioksidant response elementer (AREs), som er vist å påvirkes også av EPA og DHA i synergi med astaxanthin (Saw m.fl. 2013).

Fettløselige komponenter som karotenoider, fett, ulike fettsyrer, steroler og bioaktive produkter dannet fra fettsyrer er helt sentrale for mange biologiske funksjoner, og derfor er det naturlig at endringer i fettsyresammensetningen i fôret til laks og ørret vil ha konsekvenser for fiskens vekst, utvikling og helse.

Ernæringsrelaterte helse- og velferdsutfordringer i oppdrett av laks og ørret.

Motstandsdyktighet mot infeksjoner inkludert inflammasjon

Fettkilder og fettsyrer kan påvirke fiskens helse og immunologi på mange ulike måter. Dette kan for eksempel være knyttet til fettsyrenes fysiologiske roller i membraner (membranfluiditet og membranrelatert enzymaktivitet), påvirkning av avledete oksiderte produkter (oksidative radikaler) og produksjon av signalsubstanser som eikosanoider (cytokinproduksjon) (Waagbø 2006). Sammenlignet med en del andre komponenter i fôr (pre/probiotika, vitaminer, generelle immunomodulanter/stimulanter), finnes det imidlertid lite informasjon om effekt av fettsyrer på infeksjoner i laksefisk. Smitteforsøk med *Aeromonas* (furunkulose agens) og *Vibrio* (kaldtvannsvibriose agens) bakterier har vist enten positive, negative eller ingen effekter av fôrets EPA+DHA innhold, forhold mellom EPA og DHA eller forhold mellom omega-3 og omega-6 (Erdal m.fl., 1991, Waagbø m.fl. 1993ab, 1994, Kiron m.fl., 1995, Thompson m.fl., 1996, Bransden m.fl., 2003, Gjøen m.fl., 2004; Waagbø, 2006). *In vitro* studier gir et tilsvarende bilde (Salte m.fl., 1988, Bektas & Ayik, 2010, Kiron m.fl., 2011). Kontrollerte feltforsøk mangler, og det eneste som er rapportert (Rørvik m.fl., 2003) viste økt overlevelse mot både furunkulose og kaldtvannsvibriose med økende EPA+DHA innhold i fôret i kombinasjon med lave nivåer av jern. De varierende resultatene kan skyldes mange faktorer, som at ulike fiske- og planteoljer og ulike fettnivå er brukt som kan gi svært ulik mengde omega-6, enumettet fett, mettet fett og EPA+DHA, varierende eksperimentell design og smittemodell (f. eks. ulik infeksjons dose).

Resultat fra nyere forsøk viser at fôrets fettsyresammensetning og balansen mellom omega-6 og omega-3 i fôret spiller en viktig rolle for betennelsesresponsen i både modellsystem og smitteforsøk. Hodenyceller isolert fra laks tidligere gitt fôr dominert av mettet fett (palmeolje, (n-6/n-3: 0.7), umettet fett (rapsolje, n-6/n-3: 0.9), omega-6 (soyaolje, n-6/n-3: 2.4) og høy omega-6 (høy soya, n-6/n-3: 4.1) ble stimulert med LPS *in vitro*, som en modell for inflammasjon (betennelse) ved bakteriell smitte (Holen m.fl., in prep, FHF # 900959). Celler fra fisk gitt omega-6 fôrene (soya og høy soya) høyere ratio av PGE₂:PGE₃ og LTB₄:LTB₅ (dvs dominans av proinflammatoriske eikosanoider) målt i cellekulturmediet, sammenlignet med fisk gitt enumettet og spesielt mettet fett. Fisk gitt soyaoljefôret skilte seg ut med høyere genuttrykk av IL-1 β og TNF α , som er viktige betennelsesmarkører, enn alle andre grupper,

inkludert høy soya fôret. Resultatene tyder på at fettsyresammensetning i fôr spiller en rolle for betennelsesrespons til bakteriell smitte. Det som er uklart i denne sammenheng er hvorfor ikke fisken som hadde høyest n-6/n-3 ratio hadde høyest uttrykk av inflammasjonsgener. Forklaringen kan ligge i at ved en veldig sterk respons kan immunforsvaret bli undertrykt (oversiktsartikkel Gómez-Abellán og Sepulcre, 2016), men dette må undersøkes nærmere for å kunne konkludere. Videre kan det være viktig å etablere hvor høy n-6/n-3 ratio laksen tåler før betennelsesrespons blir påvirket og immunforsvaret potensielt redusert.

I et annet *in vitro* forsøk ble primære hodenyremakrofager isolert fra laks som var fôret med henholdsvis 0%, 1% eller 2% EPA, DHA eller en 1:1 miks av EPA+DHA fra 40 gram fiskestørrelse fram til 400 gram (Arnemo m.fl., 2016; NFR 224913/FHF 900957). Ustimulerte makrofager fra fisk gitt fôr med 0% EPA og DHA hadde høyere uttrykk av IL-1 β , noe som tyder på høyere basalt betennelsesnivå. Disse så samtidig ut til å respondere mindre på immunstimulering med TLR (Toll-like Receptor) agonister enn celler fra laks fôret med $\geq 1\%$ EPA og/eller DHA i fôret, og indikerer at nivået av EPA og DHA i fôret har betydning for grad av immunrespons.

Effekter av fettsyrer på dagens relevante virussykdommer er lite studert, men nylig publiserte data viser at lavere totalt fettinnhold (18% sammenlignet med 31%) kombinert med økt innhold av EPA i fett (1,5-1,6% sammenlignet med 1,5% av fôret/ 8.8-9,5% sammenlignet med 4,8% av fettsyrene)⁶, kan redusere hjerteskatte og dempe betennelsesreaksjoner hos laks under smitteforsøk med hjerte- og skjelettmuskelbetennelse (HSMB) (Martinez-Rubio m.fl., 2012, 2013) og kardiomyopatisyndrom (CMS) (Martinez-Rubio m.fl., 2014). Selv om det var lite forskjell i EPA i % av fôrene, var det økt EPA innhold i vev i både hjerte og hodenyre hos fisken som fikk økt relativt innhold av EPA i fôret, antakelig grunnet en kombinasjon av lavere fettprosent og endret balanse mellom EPA og omega-6 fettsyrer.

I et vekstforsøk med laks i merder i sjø ved Nofima, Averøy (nå: Marine Harvest Fish Feed), hvor tre kommersielle standardfôr og et eksperimentelt fôr ble sammenlignet, varierte dødeligheten i tre fôrgrupper (9 merder) fra 10 til 50% under et naturlig HSMB-utbrudd, mens all fisk overlevde i den ene av de kommersielle fôrgruppene⁷ (3 merder). Fôret som ga 100% overlevelse skilte seg fra de andre ved å ha forhøyet innhold av EPA, trolig som følge av bruk

⁶ 18-31% fett i fôrene, EPA 4,8-9,5% av fettsyrene, DHA 3,6-9,5% av fettsyrene, n-6/n-3 ratio 0,7-0,3

⁷ Konfidensielt industriprosjekt, ytterligere detaljer om fôrene er ikke tilgjengelig.

av en søramerikansk fiskeolje med høyt EPA-innhold (Nofima/Lerøy Seafood Group, upubliserte resultater). Dette ble fulgt opp med et kontrollert forsøk der laks (ca 180 g) ble gitt fôr med to ulike nivå av EPA, henholdsvis 0,75% og 2,35% av fôret⁸ etter smitte med PRV (HSMB-virus) (FHF 900966). Summen av EPA og DHA i de to fôrene var hhv 1,48 og 3,33%. Forskjellen i EPA-innhold ble oppnådd ved å bytte ut vanlig fiskeolje med et triglyserid konsentrat av EPA, slik at øvrig fôrsammensetning ble så lik som mulig. Det var ingen forskjell i virusmengde i hjerte mellom de ulike eksperimentelle gruppene, men hjerter fra fisk fôret med lavt innhold av EPA hadde større patologiske endringer i hjerte enn fisk gitt ekstra EPA 6 uker etter smitte. Genuttrykksanalyser (microarray) av hjerte viste en kraftig og bred nedregulering av virusinduserte immun- og betennelsesrespons i fisk som hadde fått fôr med høyt EPA-innhold. Resultatene fra disse forsøkene kan tyde på at reduksjonen av andel fiskeolje i fôret de siste årene kan ha gjort laksen mindre motstandsdyktig mot HSMB. Siden utbrudd av HSMB ofte kommer ca et halvår etter utsett i sjø kan det være potensiale i å forebygge denne sykdommen med økt andel EPA i en periode tidlig i sjøvannsfasen. Denne muligheten bør undersøkes.

Økt n-6/n-3 ratio i fôr, framkalt ved å bytte ut fiskeolje med rapsolje, gjorde at mengde virus i vev ble redusert i et forsøk med regnbueørret (25 g) smittet med SAV1 (pankreas sykdom, PD) (Lopez-Jimena m.fl., 2015). Dette samsvarer med et forsøk med laks i sjøvann smittet med SAV3, hvor fisk som hadde fått høyt EPA eller DHA innhold i fôret før smitte viste tendens til økte virustall og patologi i pankreas 4-6 uker etter smitte, mens det var antydning til at dette ble reversert 8-10 uker etter smitte (FHF 900966). I et nylig gjennomført smitteforsøk ble stor laks (~1 kg) smittet med SAV3 (FHF 900959). Fisken var tidligere gitt fôr basert på ulike planteoljer, hver dominert av sine respektive fettsyrer: mettet fett (palmeolje, (n-6/n-3: 0.7), umettet fett (rapsolje, n-6/n-3: 0.9), omega-6 (soyaolje, n-6/n-3: 2.4) og høy omega-6 (høy soya, n-6/n-3: 4.1)⁹. Resultatene fra smitteforsøket viste at det ikke var forskjell i virusmengden i hjertet mellom fisk fra de ulike diettgruppene, men at det var forskjell i hvordan fisken responderte til virusmitte. Fisk tidligere gitt et høyt innhold av omega-6 fettsyrer i fôret (38-43% av fettsyrene, soyaolje og høy soyaolje) hadde en sterkere betennelsesrespons og immunrespons, mens fisk som ble gitt fôret med mye mettet fett (palmeolje) viste antydning til bedre utfall, med mindre betennelse og raskere reparering av sykt vev (Remø m.fl., 2016).

⁸ 25% fett i fôrene, EPA 3,3-9,4%, DHA 6,1-9,0% av fettsyrer, n-6/n-3 ratio 0,8-1,3

⁹ EPA+DHA ~1.1% av fôret i alle fôrgruppene, ~27% fett i fôrene, EPA+DHA~4.5% av fettsyrene. Palmeoljefôr har 35% mettet fett, rapsoljefôr 55% enumettet, soyaoljefôr 38% omega-6 og høy soyaoljefôr 43% omega-6.

Dermed er det tydelig at fettsyresammensetning i vev ved smitte er viktig for betennelses- og immunrespons hos laks. Fisk som fikk fôrene med henholdsvis høyt innhold av palmeolje og rapsolje hadde en nokså lik n-6/n-3 ratio (0.7 vs 0.9), men det var likevel antydning til at fisken som fikk mettet fett håndterte smitten bedre og ble raskere frisk (jmf resultat fra LPS stimulering av hodenyreceller). Dermed kan det være nyttig å følge opp disse resultatene og undersøke om innholdet av mettet fett utgjør en fordel under virussykdom, eller om en forskjell i n-6/n-3 ratio på 0.7 til 0.9 i fôret er nok til å forårsake forskjeller i betennelses- og immunrespons.

Selv om vi har indikasjoner fra ulike forsøk på at fettsyresammensetning i fôret kan ha betydning for fiskens motstand mot virussykdommer, så er det vanskelig å vite hvor stor betydning dette vil ha under praktiske forhold i felt. Selv om en rekke *in vitro* studier har vist effekter av omega-3 og omega-6 på ulike immunrespons (Arnemo m.fl., 2016; Balfry m.fl., 2006, Bell m.fl., 1992, 1993, 1996, Gjøen m.fl., 2004, 2007, Henderson m.fl., 1992, Holen m.fl., 2015; Kiron m.fl., 1993, 1995, 2011, Puangkaew m.fl., 2004, Seierstad m.fl., 2009, Thompson m.fl., 1996), sier disse isolert sett lite om fiskens *immunkompetanse* under en gitt sykdom. Neste steg bør derfor være å utføre kontrollerte smitteforsøk i kombinasjon med feltforsøk på selekterte lokaliteter med gjentatt sykdomshistorikk, for å sammenligne og studere effektene under kontrollerte smitteforsøk med effektene under kliniske utbrudd i felt. Det er også aktuelt å studere om endret fettsyresammensetning i fôret har effekt på bakterieinfeksjoner (f. eks. *Moritella viscosa* (vintersår) og *Tenacibaculum* spp.) og lakselus, som aldri har vært studert i denne konteksten.

Det er avgjørende å forstå hvordan immunstatus før, under og etter infeksjon påvirkes av fôrets fettsyresammensetning, og hvordan det igjen påvirker faktisk utbrudd av virussykdommer.

Det er dokumentert at fettsyresammensetning i fôr påvirker infeksjonsforløp og immunforsvar hos laks, men hva som er optimal fettsyresammensetning for god beskyttelse mot virusinfeksjoner er ennå ikke helt klarlagt. Det er klare indikasjoner på at fettsyresammensetning, inkludert EPA-innhold, n-6/n-3 ratio og muligens mettet fett, i fôr har effekt på sykdomsutvikling hos fisk med noen inflammatoriske virussykdommer (HSMB, CMS, PD). Dette er blant de viktigste sykdommene i norsk lakseoppdrett, og den praktiske betydningen av dette bør undersøkes både i kontrollerte smitteforsøk og feltforsøk.

Katarakt

Katarakt, også kalt grå stær, er en lidelse som fører til blakking av øyets linse, noe som i alvorlige tilfeller fører til blindhet og redusert fôropptak hos oppdrettsfisk. Katarakt er en «multifaktoriell produksjonsrelatert lidelse» og risikoen for kataraktutvikling er påvirket av både uheldige miljøforhold, suboptimal ernæring, rask vekst og genetikk (oversiktsartikkel av Bjerkås m.fl, 2006). Linsen får ofte de samme forandringene etter ytre eller metabolsk stress, noe som gjør det vanskeligere å identifisere årsak til kataraktutvikling. Ved hjelp av en spesiell lupe (spaltelampe) kan man nærmere undersøke type katarakt (permanent ødeleggelse eller forbigående osmotisk katarakt), hvor skadene er lokalisert, og vurdere hvor alvorlig blakkingen av linsen er ved å score fra 0 til 4 for hver linse, dvs 0 til 8 for begge øyne, i forhold til hvor mange prosent av linsen som er blakket (Wall & Bjerkås, 1999).

Når det gjelder fettkilder og kataraktutvikling er det begrenset kunnskap om hvor vidt fettkilder øker risikoen for kataraktutvikling og hvilken rolle fettkilder spiller for kataraktutvikling i de ulike livsfasene. I to fôringsforsøk med laks gjennom hele livssyklusen, fra startfôring til slakt, ble det funnet høyere innslag og mer alvorlig katarakt hos voksen fisk gitt vegetabilsk oljemix sammenliknet med fiskeolje (75 og 100% erstatning av FO med en mix av raps, palme- og linfrøolje; RAFOA 2005). I et nyere startfôringsforsøk der man sammenlignet kataraktutvikling i laksefamilier med høy eller lav desaturasekapasitet (Remø m.fl., in prep, FHF # 900770) var det antydning til at fôret gitt frem til 40 gram i ferskvann var utslagsgivende for kataraktstatus undersøkt ved 4 kg, og uavhengig av fettkilde i fôr gitt etter overføring til sjøvann. I motsetning til tidligere resultat var det en svak tendens til bedre utfall med lavt innhold av fiskeolje i startfôret ($p=0.13$) hos fisk med lav desaturasekapasitet, men ikke for fisk med høy desaturasekapasitet (fôrgruppene var 0-25-50-75-100% FO:RO ved startfôring, EPA og DHA 3.8-2.2%, n-6/n-3 ratio 0.3-0.7). Disse resultatene antyder at fettkilder eller fettsyresammensetning i startfôret kan spille en rolle for seinere kataraktutvikling.

Flere forsøk har blitt utført for å undersøke hva ulike fettkilder, EPA og DHA innhold og n-6/n-3 ratio i fôret betyr for kataraktutvikling etter overføring til sjøvann. I fôringsforsøk med laksesmolt (Remø m.fl. 2011;2014) og stor laks (to forsøk i EU prosjektet AQUAMAX) ble det ikke blitt funnet at vegetabilske oljer øker risikoen for kataraktutvikling sammenliknet med fiskeolje. I nyere forsøk med laksesmolt (200g-800g) gitt fôr basert på ulike planteoljer med høy andel mettet fett (palmeolje, n-6/n-3 ratio 0.7), umettet fett (rapsolje, n-6/n-3 ratio 0.9),

omega-6 (soyaolje, n-6/n-3 ratio 2.4) og høy omega-6 (høy soya, n-6/n-3 ratio 4.1)¹⁰, ble det heller ikke funnet forskjeller i kataraktutvikling mellom de ulike gruppene, og det var generelt lite kataraktutvikling (Sissener m.fl. in prep, FHF # 900959). I et fullskala forsøk (CAC2012G) der det ble gitt henholdsvis 1.6 og 2.6 % EPA+DHA¹¹ av fôret gjennom hele sjøvannsfasen, var det ingen forskjell i kataraktutvikling mellom gruppene (Sissener m.fl., innsendt manuskript). Derimot har et forsøk vist at kataraktutvikling undersøkt ved 1.3 kg kunne tilskrives fôret gitt ved overføring til sjøvann, fra 40g – 400g (Remø m.fl., in prep, FHF # 900957). Laks gitt fôr uten fiskeolje og fiskemel, men tilsatt ulike nivåer av EPA, DHA og EPA+DHA (0-2%) og med ulik n-6/n-3 ratio (1.2-4.3) utviklet alvorlig katarakt, mens fisk gitt fôr basert på fiskeolje og fiskemel (2.2% EPA+DHA, n-6/n-3 ratio 1.4) hadde lite katarakt. Effektene var helt uavhengig av fôr gitt fra 400g-1.3kg. Histidininnholdet i fôrene var like, noe som tyder på at effekten må tilskrives andre komponenter i fiskemel og/eller olje. Den metabolske profilen i linsa (metabolomikk) viste at linsener fra fisk på 1.3 kg fremdeles var påvirket av fôret gitt i tidlig fase (40-400g) (Remø m.fl., in prep), noe som kan antyde at fôret gitt i tidlig fase har en langvarig betydning for linsen. Samlet sett tyder dette på at n-6/n-3 ratio og innholdet av EPA og DHA i fôrene ikke var avgjørende for kataraktutvikling i dette forsøket. Derimot bør det undersøkes om det er fiskeolje eller andre komponenter i fôret ved overføring til sjøvann som bidrar til å minimere kataraktutvikling, og om denne virkningen er umiddelbart etter utsett eller også i noe senere perioder.

Til tross for ulike resultat vedrørende kataraktutvikling i de ovennevnte forsøkene, er det vist at fettsyresammensetning i fôret påvirker linsens metabolisme, sammensetning og forsvaret mot kataraktutvikling. Linsen har et lavt fettinnhold (0.5% av våtvekten) og en konservativ fettsyre- og fettklassesammensetning, men bruk av vegetabiliske oljepåvirker likevel innholdet av omega-6 og i mindre grad omega-3 fettsyrer (Waagbø m.fl., 2004; Remø m.fl. 2014, Remø m.fl., 2011). I etablerte organkulturstudier er det vist at komponenter i planteoljer kan påvirke osmoregulering i linsen (Tröbe m.fl., 2010), og at antioksidantforsvaret i linsen kan være påvirket av oljekilde, selv om det ikke ble funnet forskjeller i katarakt-score (Remø m.fl., 2011). Å vedlikeholde en god vannbalanse og antioksidantforvar er viktig for å bevare linsens integritet og struktur, spesielt i perioden rundt overføring til sjø, men det er uklart hvor viktige disse endringene er i forhold til risikoen for å utvikle katarakt.

¹⁰ EPA+DHA ~1.1% av fôret i alle fôrgruppene, ~27% fett i fôrene, EPA+DHA~4.5% av fettsyrene

¹¹ EPA+DHA: 1.6/2.6% av fôret, ~34% fett i fôrene, EPA+DHA 5.2/8.2% av fettsyrer, n-6/n-3: 1.3/1.0

Triploid laks har økt risiko for utvikling av katarakt (Taylor m.fl., 2015). Det er mulig at triploid laks med hell kan benyttes som modell både i fôringsforsøk og linsekulturstudier for å avklare membranlipidenes eventuelle rolle i kataraktutvikling.

Gjeldene kunnskap dokumenterer at diploid laks som spiser ned til 1,6 % EPA og DHA av fôret gjennom sjøvannsperioden ikke har økt risiko for katarakt. Videre er det nå vist i flere forsøk at oljekilden ved startfôring og ved sjøutsetting kan være utslagsgivende for kataraktutvikling. Vi trenger kunnskap om hvilke komponenter i fôret i tidlig livsfase som påvirker kataraktutvikling, og om samspillet mellom genetikk, fettsyrer i fôret og histidin.

Benhelse

Benutvikling og -helse i fisk påvirkes av mange faktorer i oppdrett, inkludert fôrsammensetning gjennom produksjonen fra yngel (Cahu m.fl., 2003; Waagbø, 2010; Moren m.fl., 2011) til voksne stadier (Brown & Nunez, 1998; Waagbø m.fl. 2005, 2006, 2008; Lall & McCrea, 2007). Hovedfokuset for bendeformiteter hos laks og ørret har de siste årene med rette vært knyttet til mineralernæring og fosfor (review Bæverfjord m.fl., 2012, Albrektsen m.fl., 2014; Fjelldal m.fl., 2016, Ytteborg m.fl., 2016), fettsyrer (Gil-Martens 2012) og vitamin C (Sandnes 1991; Waagbø 2006), vitamin D (Lock m.fl., 2010), vitamin K (Krossøy m.fl., 2011) og vitamin A (Ørnstrud m.fl., 2013). Økt bruk av nye alternative ingredienser i fôr til laks har ført til redusert nivå av en rekke ulike komponenter, inkludert EPA og DHA, i fôret og dermed ført til behov for ny kunnskap om hvordan disse endringene påvirker bendannelse.

Det er tidligere vist at effekten av fettsyrer på benmetabolismen avhenger både av type fettkilder og konsentrasjonen av disse (oversiktsartikkel Watkins m.fl., 2001). I europeisk havabbor øker lave nivåer av EPA+ DHA i larvestadiet andelen fisk med bendeformiteter (Villeneuve m.fl., 2005; Villeneuve m.fl., 2006). I lakseparr har man vist at økt mengde planteoljer i fôret kan redusere bendannelse og øke forekomsten av deformateter (Helland m.fl., 2006). I tilsvarende forsøk med smolt, der fiskeoljer ble erstattet med soyaolje (høy omega-6) (Gil-Martens m.fl., 2010), ble det derimot konkludert med at et EPA og DHA nivå i fôret på 0.4 % ikke hadde noen negativ effekt på benutvikling sammenliknet med fiskeoljebasert fôr (2.4 % EPA+DHA)¹². Disse ulike resultatene tyder på at det kan være ulike behov avhengig av fiskens livsstadium.

¹² Fettinnhold i fôr ~19%, EPA+DHA: 2.2 og 13.4% av fettsyrer, n-6/n-3: 0.3 og 6.0

Benstudier på tvers av arter har så langt vist at bendannelse er konserverert, hos fisk inkludert. Hos pattedyr har man sett at flerumettede omega-3 fettsyrer kan øke bendannelse ved å øke osteoblastenes evne til å sekreere og mineralisere matriks (Ahmed m.fl. 2013), og det er derfor rimelig å anta at dette også er tilfelle hos laks. Hvilke langtidskonsekvenser redusert mengde EPA og DHA i føret kan ha for benstyrken hos laks er til nå ikke studert. Fettkilders påvirkning av benhelse kan være relatert til EPA og ARA sin rolle som forløpere til eikosanoider, som f.eks prostaglandiner. Prostaglandiner blir produsert lokalt og kan påvirke både oppbygging og nedbryting av ben. Omega-6 fettsyren ARA gir f.eks. opphav til PGE₂ som kan stimulere benresorpsjon mens motsatt effekt har vært vist for omega-3 fettsyrer. Ytteborg m.fl. (2010) viste at tilsetning av DHA til benceller i kultur kan redusere produksjonen av PGE₂. I samme forsøk ble det også vist at DHA kan stimulere osteocalcin-produksjon, et viktig protein for mineralisering av benmatriks. Stor andel av PGE₂ kan videre føre til inflammatorisk tilstand i fisken. Kronisk betennelse bidrar til redusert Ca-innhold i ben og dermed redusert benstyrke. Kvellestad m.fl. (2000) foreslo betennelse som riskofaktor for bendeformitet hos laks. I et føringstudie med fiskeolje eller soyaolje i føre til lakseparr, kunne man ikke påvise en klar sammenheng mellom fettkilde i føret og induert inflammasjon på utvikling av bendeformiteter, verken i ferskvannstadiet eller etter oppfølging i sjøvann (Gil-Martens m.fl., 2010).

Det er fortsatt uklarerheter om ulike fettsyrer eller oljekilder påvirker benhelsen, spesielt under rask vekst og forhøyete temperaturer. Forskning på kombinasjoner og konsentrasjoner av næringsstoffer, tilstedeværelse av antinæringsstoffer og samspillet mellom disse er foreløpig på et tidlig stadium. Nyutviklede *in vitro* bencellekulturer vil gjøre det lettere å studere detaljer rundt benutvikling og enkeltkomponenter og/eller samspillseffekter av næringsstoffer i fremtiden (Ytteborg m.fl., 2015).

For lite EPA og DHA og for mye omega-6 gir redusert bendannelse og utvikling i tidlige livsfaser, men minimumsnivå av EPA og DHA og optimal omega-3/omega-6 forhold for god benutvikling i tidlige livsstadier er ikke etablert. På senere livsstadier ser det ut til at fisken takler at 70% av fett i føret er planteoljemiks og at disse til og med kan ha positive effekter. Føringforsøk som foreligger er ofte avgrenset til korte perioder i fiskens liv og kunnskap om langtidseffekter og behov gjennom produksjonssyklus mangler.

Fettdeponering som symptom på omega-3 mangel?

Humane studier har vist at dersom energiinntaket er høyere enn energibruken, og videre at fettdepotene ikke har nok kapasitet til å lagre fett fra dietten trygt, så vil det kunne føre til ”fulle fettceller” og akkumulering av fett i andre vev og organer som hjerte, lever og muskel



(Figur 13) (Frayn 2002). Økt fettnivå i ulike vev og organer kan føre til økt betennelsesfare og risiko for utvikling av livsstilssykdommer som type-2-diabetes, hjerte/kar lidelser, kronisk betennelselidelser, hudlidelser m.m. Hvorvidt dette også kan skje i fisk er relativt ukjent.

Figur 13; Negative konsekvenser av fettlagring

Innvollsfett

Det er vist at genetisk bakgrunn og nivå av EPA og DHA i fôr kan påvirke mengde innvollsfett i Atlantisk laks (Todorovic m.fl., 2008a, Torstensen m.fl., 2011, Berge m.fl., 2015, Ruyter m.fl., 2016). *In vitro* forsøk har vist at fettsyrer som det er mye av i planteoljer, som 18:1n-9, kan føre til høyere fettakkumulering og lavere mitokondriell forbrenning av fettsyrer i fettceller fra laks sammenlignet med EPA og DHA (Todorovic m.fl., 2008b).

De få studiene fra laks er i overensstemmelse med tallrike studier fra pattedyr som har vist at fiskeoljer rik på EPA og DHA kan redusere fettdeponering i vev og organer (Belzung m.fl., 1993, Hainault m.fl., 1993, Ruzickova m.fl., 2004, Flachs m.fl., 2005 Todorovic m.fl. 2008, Kjær m.fl. 2008). De nøyaktige virkningsmekanismene for hvordan EPA og DHA kan ha en anti-fedme effekt er fortsatt i stor grad ukjent, men følgende mekanismer kan være involvert; EPA og DHA hemmer viktige enzymer i lipidsyntesen (slik som fettsyre syntase (FAS) og stearyl-CoA-desaturase-1), øker mitokondriell fettforbrenningskapasitet, reduserer fettsyreopptak i fettceller og er i noen studier vist å indusere fettcelledød (apoptose) (Li m.fl., 2008).

Økt innvollsfett hos gnagere og folk kan føre til kronisk lavere-grad bestennelse som har klare negative helseeffekter. Det er sannsynlig at andre fettsyrer, som omega-6 og balansen mellom omega-6 og omega-3 påvirker fettdeponering hos fisk som den er vist å gjøre i gnagere (Alvheim m.fl. 2012; 2013). Det kan til dels forklare de motstridende resultater som viser til

ingen effekt eller lavere fettdeponering i fisk når fiskeolje erstattes med ulike planteolje i fôr til laks (Bendiksen m.fl., 2003, Nanton m.fl., 2007). Vi har også observert at samspill med andre næringsstoff i fôret sannsynlig samvirker med fettsyrer og påvirker mengden innvolls fett, noe som beskrives nærmere i kapittelet om samspill med andre næringsstoffer.

I FHF prosjektet 900770 ble laks fra Høy og Lav desaturase familier fôret med ulike nivåer av EPA og DHA fra 100-500 g størrelse og deretter satt i samlemerd i sjø og gitt fôr med 1 % EPA og DHA fram til slakting (4 kg). Forsøket viste at genetisk bakgrunn i samspill med fôrsammensetning var av stor betydning for fettfordelingen i fiskekroppen, spesielt med hensyn på risiko for utvikling av fettlever og deponering av innvolls fett. Ved avslutning av forsøket ved 4 kg hadde de genetiske gruppene lik kroppsvekt og fettnivå i filet. Det ble derimot observert lavere dødelighet, mindre grad av fettlever og mindre mengde innvolls fett i Høy-desaturase-fisk som hadde genetisk høyere kapasitet til EPA og DHA produksjon (Berge m.fl., 2015). I prosjektet 900957 hvor langtidseffekter av lave nivåer av EPA og DHA ble studert, fant man at laks fôret med 1% EPA og DHA eller lavere, hadde økt mengde fett i lever og rundt innvoller enn laks fôret med 1,7% EPA+DHA i fôret.

Økt fettdeponering i lever

Økt fettakkumulering i lever kan ha flere mulige årsaker enn ”fulle fettceller” hypotesen som beskrevet over. En mulig årsak til økt fettakkumulering i lever (fettlever) kan være generell ubalanse mellom næringsstoff i dietten. Økt fettdeponering i lever er rapportert som en essensiell fettsyremangelindikator i ørret (Owen m.fl., 1975). FHF studiene 900770 og 900957 viste at funnene i ørret er i overenstemmelse med nyere observasjoner fra laks fôret med $\leq 1\%$ EPA og DHA i dietten over store deler av livssyklus, hvor det ble observert økt forekomst av fettlever (Berge m.fl., 2015, Ruyter m.fl., 2016). Videre viste studien av Berge m.fl., 2015 at fisk som var selektert for økt egenkapasitet til EPA og DHA produksjon (Høy desaturase-familier) hadde mer DHA og signifikant lavere mengde fett i lever sammenlignet med Lav desaturasefamilier. Dette peker på at genetisk bakgrunn antagelig er av stor betydning for fiskens evne til å takle lave EPA og DHA nivåer i fôret over lang tid.

I et fôringsforsøk der Atlantisk laks ble gitt graderte nivåer av EPA+DHA fra 0,5-1,7 % av fôret ved henholdsvis 6 og 12°C, viste det seg at fettnivåene i lever hos ~3000 g fisk var betydelig høyere ved den lave temperaturen (Sissener m.fl., in press). Det var også en gradient i forhold til EPA+DHA nivå ved 6°C, med økende leverfett når EPA+DHA gikk ned. Ved 12°C var det

derimot ingen effekt av EPA+DHA innhold i fôret på fettlagring i lever. I et tilsvarende forsøk som kun ble kjørt på 12°C og med EPA+DHA nivå fra 0.4 -2.3 % av fôret, fant man forskjell i mengde lipiddråper i lever mellom diettene med henholdsvis 0.4 og 2.3% EPA+DHA i forsøket, mens de resterende diettgruppene ikke ble undersøkt (Sanden m.fl, in press). I begge disse forsøkene var det også gradienter i både kolesterol og fytosterol i diettene (pga utskifting av fiskeolje med en planteoljemix bestående av raps-, palme- og linfrøolje, for å oppnå en gradient i EPA+DHA), som kan ha forårsaket og/eller bidratt til de observerte effektene på fettakkumulering i lever.

Flere studier har vist økt fettnivå i lever til laks når fiskeolje erstattes med høye nivå av rapsolje eller mix som inneholder rapsolje og/eller soyaolje i fôret (Liland m.fl., 2013, Torstensen m.fl. 2011, Mørkøre m.fl., 2013), spesielt ved lave vanntemperaturer (Ruyter m. fl., 2006, Jordal 2007). I motsetning til studiene over, ble det ikke funnet effekt på fettdeponering i lever til laks gitt et palmeoljerikt fôr (Torstensen m.fl., 2000, Bell m.fl., 2002) eller et fôr med 1:1 rapsolje:linfrøolje mix (Tocher m.fl., 2001). En studie med ørret viste at høye nivå av en planteoljemix i fôr (4:2:1, rapsolje:palmeolje:linfrøolje) ikke påvirker opptak, transport og syntese av fett i lever til ørret (Richard m. fl., 2006).

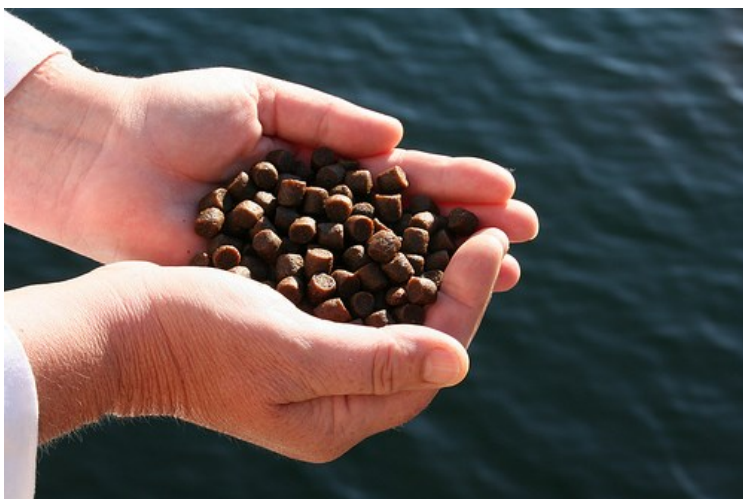
Man vet foreløpig lite om eventuell fysiologisk betydning/helseeffekt av økt fettdeponering i lever til laks. Men studiene av Berge m.fl. (2015) og Ruyter m.fl. (2016), hvor laks ble fôret med $\leq 1\%$ EPA og DHA over store deler av livssyklus viste begge økt forekomst av fettlever, økt mengde innvolls fett og redusert overlevelse i sjøvannsfasen, noe som kan indikere en mindre robust laks.

Økt fettdeponering rundt hjerte

Overvektige mennesker har ofte mer fett i fettceller rundt hjertet som kan over tid påvirke hjertets funksjon. Det er ikke publiserte data på mengde lagringsfett i hjerte hos laks eller ørret som er fôret med lite EPA+DHA eller ulike planteoljer. Men foreløpige upubliserte data fra laks viser en tendens til økt fettlagring rundt hjerte når fiskeolje erstattes med ulike planteoljer (Remø m.fl., in prep) og videre tendens til økt fettlagring i hjertet når laks er fôret med dagens kommersielle høyfettfôr sammenlignet med et lavfettfôr (Takle m. fl., 2012). Rapporten av Takle m.fl. (2012) viste også at fettlagringen i hjertet påvirkes av fiskens aktivitetsnivå. Hvilken helseeffekt en økning i fettlagring rundt hjerte har for laks og ørret i oppdrett er ukjent.

Resultatene over tyder på at genetisk bakgrunn og ubalanse i nærings sammensetningen av fôret over tid, inkludert mangel på EPA og DHA, påvirker fettfordelingen i kroppen til laks og ørret. Det er videre sterke indikasjoner på at fettfordeling og fettsyresammensetning i kroppens vev og organer er av stor betydning for fiskens helse.

Det er behov for ny kunnskap om hvilke konsekvenser endret fettfordeling og sammensetning har for fiskens helse, spesielt i samspill med andre fôringredienser og miljøfaktorer.



Hjerte/kar helse

Det er ikke gjennomført nye studier på dette området siden forrige *Fett for Fiskehelse* rapport (Torstensen m.fl., 2013), utover at resultater omtalt fra Dalum og kollegaer nå er publisert (Dalum m.fl. 2015). Følgende oppsummering er derfor fortsatt gjeldende (se forrige rapport for detaljer og referanser):

Det er godt dokumentert at laks utvikler arteriosklerose (stivhet/ redusert elastisitet i arterievegg) men ikke aterosklerose (åreforkalkning/avleiring av kolesterol i blodårene) med alder og at utviklingen ikke blir mer alvorlig når mengden EPA+DHA går ned mot 0,5 % i fôret, ei heller når mengden omega-6 i fôret er høy (med 80% soyaolje) når mengden EPA+DHA var 1,4 % av fôret. Det er ikke kunnskap om hvorvidt et minimumsnivå av EPA+DHA sammen med høy omega-6 eller høy mettet fett vil gi endringer i hjertehistologi som ligner aterosklerose.

Tarmhelse

Det er økende bevis for at også tarmen i pattedyr kan bidra vesentlig til utviklingen av diett-induserte fettrelaterte lidelser (de Wit m.fl., 2008, Drucker m.fl., 2007). Foruten signalmolekyler fra mage/tarm kanalen er bakteriefloraen i tarmen av betydning for human helse. Flere studier har vist at endringer i mikrobiell sammensetning i tarm hos mennesker kan være assosiert med fedme og fettakkumulering (Ley m.fl., 2010, Musso m.fl., 2011, Turnbaugh m.fl., 2009). Hvorvidt forhold i tarmen påvirker fettdeponering i laksefisk er ukjent.

Foreløpig vet man relativt lite om betydningen av lave nivåer av omega-3 fettsyrer og tarmhelse i laksefisk, men en tidlig studie viste at essensiell fettsyremangel kan føre til lavere mineral (Na^+) absorpsjon i ørrettarm (Nonnotte m.fl., 1987). I en nyere studie med laks (FHF prosjekt 900957, Ruyter m.fl., 2016) ble det observert at lave nivåer av EPA og DHA i fôret ($\leq 1\%$) gjennom hele livsløpet førte til reduksjon av de antiinflammatoriske fettsyrene EPA og DHA i tarmens fosfolipider og økning av de pro-inflammatoriske fettsyrene 18:2n-6 og 20:4n-6, i forhold til fisk fôret med 1,7% EPA og DHA. Det totale innholdet av omega-6 fettsyrer i de ulike fôrene var tilnærmet likt (ca 20% av totale fettsyrer). Det ble observert røde og svulne tarm og unormal vakuolisering av midttarmen i grupper fôret $\leq 1\%$ EPA+DHA i fôret. I tillegg ble det observert LPS i plasma, noe som kan indikere skader på midttarm og lekkasje av lipopolysakkarid (LPS) fra tarmmikrobiota til blodbanen. Dataene kan tyde på at EPA og DHA nivået i fôr til laks kan ha betydning for tarmbarriere funksjonen i laks og muligens sammenheng med tarmmikrobiota. Dette er en tilstand som i humanmedisin er kjent for å øke inflammasjonsrisikoen. I motsetning til dette ble det ikke påvist noen økning av inflammasjonsmarkører i midttarm fra laks fôret med 1,4 % EPA+DHA i fôret sammen med enten høy enumettet fett eller høy omega-6 i 6 mnd (Moldal m.fl. 2015). Laks som hadde spist fôr med 80% planteolje (uavhengig av type planteolje) /70% planteprotein hadde imidlertid kortere tarmfolder i midttarm sammenlignet med en 100% fiskeolje /70% planteprotein kontrollgruppe (Moldal m.fl. 2015). Histologiske undersøkelser av lipidakkumulering i tarmsegmentene viste at det var stor individuell variasjon og ingen statistisk signifikante forskjeller, selv om det var 30% mer fett i midttarm hos fisk gitt rapsolje (Liland m.fl., in prep). Det at fisken fra alle diettgruppene i arbeidet publisert av Moldal og samarbeidspartnere (2015) fôret med ulike typer planteoljer (80% rapsolje, olivenolje eller soyaolje) hadde kortere tarmfolder enn laks fôret med 100% fiskeolje kan tyde på at effekten skyldes lavere EPA og

DHA og/eller kolesterol nivå og ikke høy omega-6 eller fytosteroler. Mengden fiskemel, og dermed mengden fosfolipider, var lik i alle gruppene (Moldal m.fl. 2015).

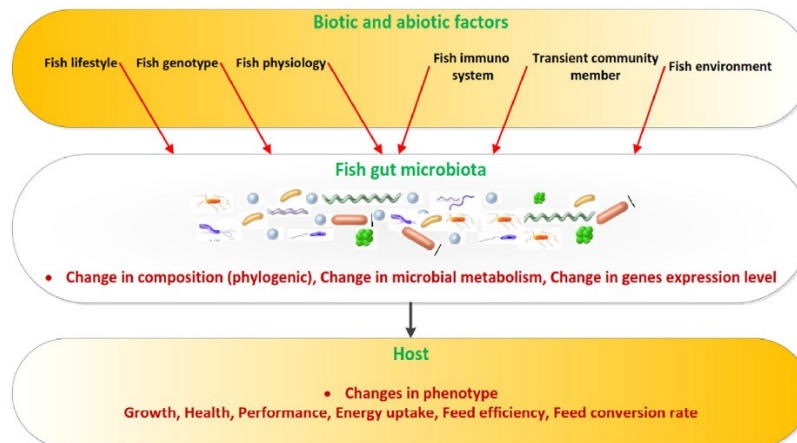
I det FHF prosjektet 900958 var målet å dokumentere om å redusere innhold av EPA+DHA fra 2,6% til 1,6% av fôret gjennom en fullskala produksjonssyklus i sjø hadde påvirkning på laksens tarmhelse. Konklusjoner (Sæle m.fl. 2014) fra forsøket var at denne reduksjonen i EPA og DHA i fôret ikke påvirket lipid akkumulering i tarmvevet hos slakteklar laks.

En rekke eldre studier har påvist økt akkumulering av fett i form av lipiddråper i tarmceller (enterocytter) når fiskeolje er byttet ut med ulike planteoljer; dvs arktisk røye (Olsen m.fl., 1998, 1999, 2000), regnbueørret (Caballero m.fl., 2002; Olsen m.fl., 2003) og havabbor (Caballero m.fl., 2003). Videre viste Ruyter m.fl. (2006) at en diett rik på soyaolje førte til økt fettakkumulering i tarm og spesielt proinflammatoriske omega-6 fettsyrer akkumulerer ved lave vanntemperaturer. Tilsvarende hadde tarmvev fra fisk fôret raps- og soyaolje høyere verdier av omega-6 fettsyrer enn tarmvev fra fisk fôret med fiskeolje (Liland m.fl., in prep). Den samme studien fant at enumettede fettsyrer, spesielt 18:1n-9 (oljesyre) ble akkumulert i tarmepitelet hos fisk fôret med raps- eller olivenolje. Konklusjonen i denne studien var at laksens evne til å regulere (transport/katabolisme) mettet fett og omega-3 fettsyrer i tarmen er god, mens de mer ”ukjente” fettsyrene for laks, som oljesyre og linolsyre vil kunne akkumuleres i tarmepitelet.

Preliminære data indikerer at EPA og DHA $\leq 1\%$ av fôret påvirker inflammasjonsrisiko i tarm, som også er under minimumsbehovet for andre helseparametre. Nye data fra andre forsøk viser ingen sammenheng mellom mengde EPA, DHA og omega-6 nivåer i fôr og fettakkumulering og inflammasjon i tarmceller, når laveste nivå er EPA og DHA er 1,4% av fôr.

Mikrobiota (tarmflora) hos laksefisk

Tarmfloraen hos fisk kan bestå av opptil 10^7 - 10^{11} bakterier/g tarminnhold (Nayak 2010), og bidrar med viktige funksjoner som næringsopptak, utvikling av tarmepitelet, immunitet og xenobiotisk metabolisme (Bates m.fl. 2006; Rawls m.fl. 2004). Noen bakterier kan også medføre utbrudd av sykdom, mens probiotiske bakterier og prebiotika kan benyttes i fiskefôr for å oppnå positive helseeffekter, via direkte eller indirekte modulering av tarmfloraen (Merrifield m.fl. 2010). I tillegg er det en rekke andre ulike biotiske og abiotiske faktorer som kan påvirke sammensetningen, funksjonen og den metabolske aktiviteten til tarmfloraen i fisk (Figur 14), slik som livsstil (f.eks. livsfase, førsammensetning), genetisk bakgrunn, fysiologi, immunsystem, miljø (f.eks. temperatur, mikroorganismer i vann og fôr) og passerende mikroorganismer i tarmen (Ghanbari m.fl. 2015):



Figur 14; Kombinasjon av biotiske og abiotiske faktorer som kan påvirke sammensetning, funksjon og metabolsk aktivitet av tarmfloraen i fisk, og videre påvirke vekst, energilagring og fiskehelse (Ghanbari m.fl. 2015).

Kunnskap om bakteriesammensetningen i fisketarm har vært preget av at de fleste studier fram til 2000-tallet ble utført med dyrkningsbaserte teknikker, som kan være selektive og gi unøyaktige resultater. De siste ti årene har det blitt utført flere studier på tarmflora i laksefisk basert på DNA-fingeravtrykks analyser (DNA finger printing) (Pond m.fl. 2006; Kim 2007, Hovda m.fl. 2007, 2012; Liu m.fl. 2008; Navarette m.fl. 2009, 2010, 2012; Mansfield m.fl. 2010). En norsk studie har vist dominans av *Lactobacillus spp.*, *Lactococcus sp.*, *Bacillus sp.*, *Photobacterium phosphoreum*, *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas sp.* og *Vibrio sp* (Hovda m.fl. 2007) i atlantisk laks. Ingen forskjeller i bakteriesammensetning i tarm ble funnet i laks føret

med henholdsvis 0,5 og 1,7% EPA+DHA, men få individer ble analysert per gruppe (Sissener m.fl, in press).

I de senere årene har det blitt en kraftig økning av publikasjoner innen tarmflorastudier i både mennesker og dyr grunnet tilgjengelighet av nye DNA baserte metoder som Neste Generasjon Sekvensering (NGS). Noen få studier med NGS har også blitt gjennomført på laks (Llewellyn m.fl. 2015; Zarkasi m.fl. 2014, 2016) og regnbueørret (Desai m.fl. 2012; Wong m.fl. 2013; Ingerslev m.fl. 2014a, 2014b; Lyons m.fl. 2015). Llewellyn m.fl. (2015) har kartlagt tarmfloraen til 96 laks og vist at tarmfloraen varierer ved ulike stadier i livssyklusen, og at diversiteten og stabiliteten ble redusert for hver livssyklus stadium. Zarkasi m.fl. (2014) har også vist endring av tarmfloraen til laks under ulike vekstfaser og påvirkning av sesong. Fôret er også en viktig faktor som påvirker tarmfloraen. Navarette m.fl. (2012) påviste at et plantebasert fôr medførte redusert bakteriediversitet i tarmen til regnbueørret. Studien konkluderte med at antibakteriell effekt av fettsyrene i rapsoljen kunne være en årsak til redusert diversitet med planteoljefôr. I en nyere studie ble det også observert at nivået av EPA og DHA i fôret til laks påvirket tarmfloraen (Rud m.fl upubliserte data). Erstatning av fiskeolje med små mengder rapsolje i kombinasjon med ertemel har også blitt konkludert til å bidra til mindre følsomhet for *Yersinia ruckeri* infeksjon i regnbueørret (Ingerslev m.fl. 2014b)

Det dokumenteres stadig flere sammenhenger mellom diett, tarmflora og human helse, men det er begrenset kunnskap om årsak og virkning. Hos fisk forstår man ennå lite av interaksjonen mellom fettsyresammensetning i fôr, tarmflora og fiskehelse. Et viktig verktøy vil være å benytte seg av de nyeste DNA baserte sekvenseringsmetodene ved fôringsforsøk, for å oppnå dypere kunnskap om betydning av fettsyresammensetning på det komplekse bakteriesamfunnet i tarmen (deriblant også ikke-dominerende bakterier), i tillegg til å studere bakterienes funksjonelle egenskaper og innvirkning på helsen.

Stress

Det er allment akseptert at fisk reagerer på stress på lignende måter som landlevende dyr (Wendelaar Bonga, 1997; Tort m.fl., 2004). Stressfaktorer i akvakultur inkluderer alt fra fysisk håndtering, høy fisketetthet, fôringsregime (f.eks. begrenset fôring og sulting) og ugunstige miljøfaktorer som saltholdighet, vanngasser (oksygen og karbondioksid), alger, miljøgifter og fôrkomponenter. I kommersiell oppdrett er stress og fôrsammensetning blant flere faktorer som kan føre til sekundære lidelser og utbrudd av infeksiøse sykdommer (Waagbø, 2006; 2008).

Stress setter i gang fysiologiske reaksjoner for raskest mulig å gjenopprette homeostatisk kontroll (Wendelaar Bonga, 1997). Hva som er en vellykket stressrespons eller akklimatisering kan være vanskelig å tolke. Plasma kortisol betraktes som en viktig markør for å stadfeste stress (Pickering & Pottinger, 1989), men ikke nødvendigvis for mestringen av stress (Ellis m.fl., 2011). Cellemembranens fettsyresammensetning som påvirkes gjennom fôret kan igjen påvirke stressresponsen som substrat for eikosanoidsyntese (Bell m.fl., 1991; 1997; Olsen m.fl., 2012).

Såkalt «shock syndrome» er rapportert fra eldre studier på regnbueørret etter mangel på EPA+DHA og alfa-linolensyre (ALA, 18:3n-3) i fôret (oversiktsartikkel fra Tacon, 1992). Tilsvarende ble imidlertid ikke funnet hos laks (Ruyter m.fl., 2000), og en mulig forklaring på denne forskjellen kan være at de eldre studiene også hadde et høyt innhold av omega-6 i fôrene. Bakgrunnen for «shock syndrome» ligger muligens i ustabile cellemembraner og oksidasjonskader i hjerne- og nervevev, selv om hjernevev påvirkes lite av fôrets fettsyrer sammenlignet med andre vev (Bell m.fl., 1991; Brodtkorb m.fl., 1997). Imidlertid påvirkes hjernens innhold av omega-6 fettsyrer av fôret i større grad enn for omega-3 (Bell m.fl., 1991; Amlund m.fl., 2012, Sissener m.fl., 2016). I et forsøk med solsikkeolje i fôret (n-6/n-3 ratio 4.4) ble høy dødelighet observert etter transport¹³ (Bell m.fl., 1991), på tross av et EPA+DHA nivå på 1.4 % av fôret. Ingen tilsvarende effekt ble sett i et nyere forsøk med laks¹⁴ (Sissener m.fl.), selv om fisken ble transportert fra Skretting ARC sin forsøksstasjon på Lerang (Ryfylke, Rogaland) til Veso (Namsos) for videre smitteforsøk med pankreas sykdom. I et forsøk med laks i sjøvannsfasen så man høy dødelighet i forbindelse med en mellomveiling i forsøket i diettgruppen som fikk soyaoljebasert fôr¹⁵, mens det var ingen dødelighet i fisk gitt fôr med

¹³ EPA+DHA 1.4% av fôret, 17% fett i fôret, EPA+DHA 8% av fettsyrer, n-6/n-3-ratio 4.4 (solsikkeolje)

¹⁴ EPA+DHA 1.1% av fôret, 26.9% fett i fôret, EPA+DHA 4.3% av fettsyrer, n.6/n-3 ratio 4.1 (soyaolje)

¹⁵ EPA+DHA 1.5% av fôret, 33.2% fett i fôret, EPA+DHA 4.4% av fettsyrer, n-6/n-3 ratio 3.9 (soyaolje)

fiske-, raps- eller olivenolje (Sissener m.fl, in prep). Hos laks gitt solsikkeolje i fôret¹⁶ så man forhøyete kortisolnivå på tre ulike uttakstidspunkter i forhold til fiskeoljefôret fisk i forbindelse med lysmanipulert smoltifisering (Jutfelt m.fl., 2007), og forfatterne konkluderte med at solsikkeolje i fôret så ut til å føre til en kronisk stressituasjon.

Det er også utført en del studier på stress og stressmestring hos marine fiskelarver, der man ser økt overlevelse etter lufteksponering og bedre mestring av temperatursjokk etter føring med økte nivå av EPA, DHA og ARA (oversiktsartikkel av Montero & Izquierdo 2010). Artemia anrikt med ulike oljer (fiskeolje og linfrø-, soya- og olivenolje) påvirket stressrelatert adferd hos tungelarver (*Solea senegalensis*), hvor torskeleverolje synes å gi mest fordelaktig adferd sammenliknet med de vegetabiliske oljene (Ibarra-Zatarain m.fl., 2015). I seabream (100 og 150g) fôret fra tidlige stadier (2,5g) med et plantebasert (planteprotein og -fett) eller marinbasert (fiskemel og -olje) fôr ble ikke adferdsparametre (selvførings-, svømme- og læringsadferd) endret, til tross for at kortisolresponsen i blod var lavere hos fisk gitt plantedietten (Benhaim m.fl., 2013). Mangel på EPA og DHA i fôret (0,4 % i fôret) til noe større fisk (juvenile gilthead seabream) førte både til kronisk forhøyete basale nivå av plasma kortisol og forhøyete nivå etter stress.

I laks fôret med lave nivåer av EPA+DHA, målte man økt plasma kortisol i fisk gitt det laveste EPA+DHA nivået¹⁷, dvs 0,5 % av fôret (Sissener m.fl., in prep.). Forhøyet plasma kortisol ble observert både før og etter en fysisk «stress-test» bestående av senkning av vannstand i karet i 30 minutter. Dette var imidlertid et lavere EPA+DHA nivå enn det som var nødvendig for å opprettholde optimal vekst og DHA nivå i røde blodceller (0,9 % EPA+DHA av fôret), dermed ser det ut til at det er kun ved nivåer godt under behovet at EPA+DHA nivå i diett påvirker plasma kortisol hos laks. Dette viser at en rask gjenoppretelse av homeostasen er prioritert framfor vekst og generelle helse mål.

Forskningen så langt viser at EPA+DHA nivå i fôret under minimumsbehov til laks gir kronisk forhøyede kortisolnivåer i blod, men også at dette kan forekomme ved EPA+DHA nivå over minimumsbehov kombinert med høyt innhold av omega-6 i fôret. Resultatene med høy omega-6 i fôret et noe sprikende, med høy dødelighet i forbindelse med håndtering i noen forsøk, men ikke i andre med tilsvarende n-6/n-3 ratioer i fôret. Det er behov for grunnleggende kunnskap

¹⁶ EPA+DHA 1.4% av fôret, 33.3% fett i fôret, EPA+DHA 5.0% av fettsyrer, n-6/n-3 ratio 7.0 (solsikkeolje)

¹⁷ EPA+DHA 0.5% av fôr, 35.5% fett i fôret, EPA+DHA 1.4% av fettsyrer, n-6/n-3 ratio: 1.3

omkring mekanismene bak stressrespons hos laks, hvordan disse påvirkes av membranens fettsyresammensetning, og hvordan forskjeller i kortisolrespons/kronisk forhøyede kortisolnivåer over tid kan relateres til mer håndfaste endepunkter som vekst, sykdomsresistens og dødelighet.



Pigmentering

Rødfargen som skyldes pigmentet astaxanthin, er et viktig kvalitetskriterium til muskelen til oppdrettslaks. I den senere tid er det rapportert fra næringsaktører (Marine Harvest, ernæringsseminar Bergen 5-6 November 2015) at det er vanskeligere å oppnå tilstrekkelig pigmentering av fileten til laks i kommersiell oppdrett til tross for at bruken av pigment i fôret har økt. Det er kjent at mengden astaxanthin som tas opp og deponeres i muskelen er varierende gjennom produksjonssyklusen, men i gjennomsnitt er retensjonen på ca 10%. Problemene man nå opplever med å oppnå tilstrekkelig pigmentering kan skyldes en kombinasjon av redusert fordøyelighet og økt omsetning av astaxanthin, som følge av endret fôrsammensetning og økt stress i forbindelse med hyppige avlusinger/ håndteringer av fisken.

Flere studier har vist at et fôr som inneholder en høy andel langkjedede omega-3 fettsyrer gir økt deponering av karotenoider i muskelen hos laksefisk. (Waagbø m.fl., 1993, 2013, Bjerkeng m.fl. 1999b, Regost m.fl., 2004, Rørå m.fl., 2005 a, b, Hardy m.fl., 1987). Imidlertid har fettsyresammensetningen i fôret variert i disse forsøkene, noen har sammenlignet Sør-Amerikansk og Nord-Atlantisk fiskeolje, mens andre har benyttet ulik innblanding av vegetabilsk olje, slik at en ikke kan utelukke effekt av andre fettsyrer/ komponenter i oljekildene. Nylig fant vi redusert innfarging og økt omsetning av astaxanthin i laks fôret med lave nivå av EPA og DHA (FHF prosjekt 900957, Ruyter m. fl., 2016), og det ble observert en tilsvarende trend i et fullskala forsøk med to ulike EPA+DHA nivåer (Sissener m.fl., innsendt manuskript). Reduksjonen av disse fettsyrene i fôret de seinere årene kan ha medvirket til en redusert utnyttelse av pigment, men de biologiske mekanismene er ikke kjent.

En flaskehals for utnyttelse av pigment er opptak i tarmen. Fordøyeligheten av astaxanthin er relativt lav, ofte rundt 50 %, og den avtar med økende fôrinntak og ved lave vanntemperaturer (Ytrestøyl m.fl. 200). Gjennom en produksjonssyklus vil fordøyeligheten variere i samspill med temperatur og veksthastighet, men fôrets sammensetning er også av betydning. Fettinnholdet og fettkvaliteten i fôret til laksen har betydning for hvor mye pigment (astaxanthin eller canthaxanthin) som blir deponert i laksemuskelen (Christiansen m.fl., 1993; Einen og Roem 1997, Nicell and Bromage 1998, Bjerkeng m.fl., 1997, 1999b, Clark m.fl., 2000). Astaxanthin og andre karotenoider er svært lite vannløselige og må derfor løses i fettdråper i tarmen før de inkorporeres i miceller som består av gallesalter, fosfolipider og fettsyrer før de kan tas opp i tarmcellene. Mer fett i tarmen fører til dannelse av flere miceller slik at mer astaxanthin kan løses og absorberes av tarmcellene (Parker 1997). **Man antar at effekten av flerumettede**

langkjedete fettsyrer er å øke størrelsen på micellene slik at mer karotenoider kan løses og tas opp i tarmcellene. Forsøk *in vitro* har vist at løseligheten av både upolare karotenoider som β -karoten og mer polare karotenoider som zeaxanthin øker med kjedelengden til fettsyrene i emulsjonen (Borel m.fl., 1996). Mengden planteråvarer i kommersielt fôr i Norge er i gjennomsnitt på over 70% (Ytrestøyl m.fl. 2015), og innholdet av blant annet EPA og DHA, kolesterol og fosfolipid i fôret er redusert i forhold til for få år siden, mens mengden kortere og mindre umettede fettsyrer og fytosteroler, har økt. Dette kan tenkes å påvirke dannelsen av og størrelsen på micellene i tarmen, som er nødvendige for opptak av astaxanthin. Tilsetning av kolesterol og gallesyrer i fôr har blitt vist å ha en positiv effekt på mengden astaxanthin i blod, mens soyalecitin reduserte mengden astaxanthin i blod (Olsen m.fl. 2005). Fettsyresammensetningen i fôret kan også påvirke fordøyelighet. Interaksjoner mellom smeltepunkt på oljen, temperatur og fôrinntak er lite undersøkt, og fordøyeligheten av astaxanthin under relevante kommersielle betingelser med dagens laksefôr er ikke kjent.

Mesteparten av det fordøyde astaxanthinet (60-80%) blir ikke retinert i laksemuskelen. Man vet at astaxanthin også omsettes metabolsk i laksen til ulike reductive metabolitter, og oksidativt til vitamin A. Det er svært lite kunnskap om hva som påvirker metabolisme og omsetning av astaxanthin gjennom en kommersiell produksjonssyklus med relevante veksthastigheter og påkjenninger som sykdomsutbrudd og avlusinger.

I den reductive metabolismen reduseres og elimineres hydroksylgruppene i flere trinn til β -karoten. Første trinn i denne omsetningen er idoxanthin. Det er vist tidligere at det er en høyere omsetning av astaxanthin til idoxanthin i liten laks og når laksen nærmer seg kjønnsmodning. Omsetningen av astaxanthin til idoxanthin øker når laks er utsatt for stressende miljøbetingelser (Ytrestøyl m.fl. 2005, 2015). Nylig fant vi også at nivået av idoxanthin i muskel var høyere i laks som hadde fått lave nivå av EPA og DHA i fôret fra 40 g til 3.5 kg (FHF prosjekt 900957, Ruyter m. fl., 2016). Det er ikke kjent om denne reductive omsetningen har en funksjonell betydning eller om den er en forutsetning for syntese av vitamin A i laksefisk. Første trinn i syntesen av vitamin A i pattedyr er symmetrisk spalting av β -karoten katalysert av enzymet β,β -carotene-15,15'-monokisid oksidase (BMCO1) som har høyest uttrykk i tynntarmen i pattedyr. Uttrykket av dette enzymet varierer mye i pattedyr, blant annet med diett, sykdom og genotype. BMCO1 er også involvert i regulering av lipidomsetning i pattedyr, og uttrykket av BMCO1 er regulert via PPAR γ som er viktig for regulering av fettmetabolisme, både i fisk og pattedyr (Lobo m.fl. 2012). **Det kan derfor være en link mellom fettmetabolisme og metabolisme av**

karotenoider også i fisk. I tillegg til BMCO1 finnes det både i fisk og pattedyr et annet enzym (BMCO2) som også spalter karotenoider oksidativt, men som har en bredere substratspesifisitet enn BMCO1. Begge disse karotenoid oksygenasene er også antatt å være viktige i reguleringen av metabolisme av astaxanthin og andre karotenoider i fisk, slik som hos pattedyr. I laks finnes det flere ulike varianter av disse enzymene, og de er hovedsakelig uttrykt i lever og tarm, og i mindre grad i muskel. I forsøket med langtidseffekter av lave nivå av EPA og DHA ble det også funnet en tendens til oppregulering av den ene BMCO1-homologen i laks føret med 1% EPA og DHA sammenlignet med de andre behandlingene. Det var også i denne behandlingen hvor idoxanthin-konsentrasjonen i muskel var høyest.

Astaxanthin er også en svært potent antioksidant som oksideres av reaktive oksygenforbindelser. Hyppige avlusinger og gjelleinfeksjoner har ført til at laksen utsettes for en del håndteringsstress i løpet av produksjonssyklusen, og det er observert en redusert retensjon av astaxanthin i muskel etter avlusing. I tillegg har bruken av hydrogenperoksid (som er en pro-oksidant) økt de siste årene, både til avlusning og behandling av gjelleinfeksjoner, men om hydrogenperoksid har en mer negativ effekt på pigmentering enn andre avlusningsmetoder er foreløpig ikke kjent. Akkumulering av fett i lever, tarm og innvoller kan også føre til økt oksidativt stress i disse organene, men om dette fører til økt omsetning av astaxanthin vet man ikke. Hvilke gener som er involvert i den reduktive omsetningen av astaxanthin og om det er en sammenheng mellom den og reduktive og oksidative metabolismen av astaxanthin er heller ikke kjent.

Det er klare indikasjoner på at oljekilden i føret påvirker pigmentering av laksefisk. Betydningen av enkeltkomponenter som EPA og DHA, kolesterol, fosfolipider, fytosteroler og mettet fett, og samspill med temperatur og stress bør testes. Grunnleggende kunnskap om opptaksmekanismer i tarm, omsetning og lagring er nødvendig for å forutse effekter av stress, miljø og førsammensetning, slik at innfarging i filet blir mer forutsigbar.

Samspill mellom fettsyresammensetning i fôr og andre faktorer

Fytosteroler

Både marine og vegetabiliske oljer inneholder flere stoff enn kun fettsyrer, og mange av disse har viktige funksjoner. Et eksempel på slike fettløselige stoffer er steroler. Steroler er en undergruppe av steroidene som deles opp i to grupper etter deres opphav; zoosteroler (zoe-; liv *gresk*) og fytosteroler (phyt; plante *gresk*), der zoosteroler kommer fra dyr og fytosteroler fra planter. Det vanligste zoosterolet er kolesterol og noen av de vanligste fytosterolene er campesterol og sitosterol. Oljer som maisolje og rapsolje kan inneholde høye nivåer av fytosteroler, mens kolesterol kommer fra animalske kilder som fiskeolje eller fett fra landlevende dyr. Fytosterolene har i mennesker en kolesterolsenkende effekt, som en tror skjer ved at de hindrer opptaket av kolesterol i tarmen (Patel & Thompson, 2006).



Forsøk med ulike fiskearter har sett effekter på blodverdier (Fatema m.fl., 2015, Chimsung m. fl., 2014), skjelettdeformasjoner (Gu m.fl., 2015) og immunparametre (Costas m.fl., 2014, Couto m.fl., 2105a) når fytosteroler er tilført gjennom fôret. Andre forsøk har vist ingen effekt av fytosteroltilsetning (Couto m.fl. 2014, 2015b).

I fôringsforsøk på Atlantisk laks har en sett at om der er dobbelt så mye fytosterol som kolesterol i dietten (80% rapsolje av fett i diett), så vil en kunne se endringer i fettmetabolismen som økt fett i lever og i blod (Liland m.fl. 2013). Dette er effekter som ligner på det en kaller metabolsk syndrom i mennesker, men der helseeffekten i laks ikke er kartlagt. Man tror at det økte fett i lever og blod er knyttet til et kolesterolunderskudd på grunn av fytosterolenes hemmende effekt på kolesterolopptak i tarmen. Dette kolesterolunderskuddet kan påvirke et system i laksen som er ansvarlig for å produsere kolesterol når kolesterolnivået er lavt i cellene, men som samtidig produserer fett som vises igjen som økt fett i lever og i blod (Horton m.fl. 2002). Resultatene er allikevel ikke entydige, og samvarierende faktorer i flere fôringsforsøk hvor en ser samme tendenser (Liland, 2014) gjør at mer spesifikke forsøk må utføres for å finne ut av fytosterolenes rolle og mekanismene bak effektene vi ser.

Oppsummert tyder foreløpige resultater på at en fytosterol:kolesterol ratio i fôr over 1,7 kan påvirke fiskens metabolisme. Hva som er fytosterolenes effekt på økning i fett i lever og plasma gjenstår å bestemme og dermed kunne gi en anbefalt øvre grense for fytosteroler og fytosterol/kolesterol ratio i fôr til laks og ørret. Det pågår prosjekt (2015-2017) ledet av NIFES finansiert av FHF der målet er å gi kunnskap om optimal fytosterol:kolesterol ratio og toleransegrense for fytosteroler.

Samspill med andre næringsstoff og fremmedstoff i fôr

Fiskens diett består både av protein-, fett og karbohydratkilder, foruten ekstra tilsetninger av mikronæringsstoff. Derved kan andre næringsstoff i samspill med fettkilden påvirke absorpsjon og omsetning av fettsyrer og *vica versa*. Raffineringsmetoder, hvordan karbohydrater og antinæringsstoffer kan påvirke fettfordøyelse og interaksjoner med vitamin E i eldre studier ble oppsummert i forrige versjon av *Fett for fiskehelse* (Torstensen m.fl., 2013).

Interaksjoner mellom fett og mikronæringsstoffer har fått fornyet oppmerksomhet de siste årene. EU-prosjektet AquaMax viste redusert vekst og endret fettlagringsmønster i laks der både fiskemel og fiskeolje var erstattet i høy grad av vegetabiliske alternativer, mens verken fiskemel- eller oljeerstatning alene ga tilsvarende effekt (Torstensen m.fl., 2008 og 2011). En av forklaringsmodellene for den signifikante økningen av fett i blod, lever og rundt indre organ var at vitamin- og mineralmengdene (basert på NRC 2011) ikke var tilstrekkelig når mengden fiskemel og fiskeolje var kun henholdsvis 20% og 30% av protein og fett i fôret. Denne hypotesen ble ytterligere styrket ved at laks fôret med 30% fiskemel sammen med 20% fiskeolje (% av protein og fett i fôret) men med en oppjustert vitamin- og mineralmix (Skrettings Microbalance®) ikke hadde de samme endringene i fettlagring rundt indre organ (Liland m.fl., 2013). Ernæringsbehov hos laks er etablert i hovedsak for fisk med lavere vekst, med lav-energi dietter, kun fôret i ferskvannsfasen eller ekstrapolert fra ørret til laks (NRC, 1993;2011). I EU-prosjektet ARRANA (EU-finansiert prosjekt 2011-2016) blir laksens praktiske behov for mikronæringsstoffer i plantebaserte fôr studert både i ferskvann og sjøvann, og gjennom hele livssyklusen. Resultater herfra støtter at suboptimale nivå av mikronæringsstoff gir økt fettlagring i lever og rundt indre organ, og at anbefalingene for en del mikronæringsstoffer må oppjusteres ift NRC 2011.

Det har videre blitt vist i forsøk med både regnbueørret og laks at hvis plantebaserte fôr tilsettes riktige mengder av de mikronæringsstoffer som fungerer som kofaktorer og koenzym i

egensyntesen av EPA og DHA og det samtidig er nok 18:3n-3 (ALA) i fôret som substrat, så kan fiskens egensyntese av EPA og DHA økes (Lewis m.fl., 2013; Giri m.fl., 2016). Spraytørkede mikrolager har vist seg god som EPA og DHA kilde og erstatter av FO i fôr til laks (Kousoulaki m.fl., 2016), og her viste også ekstra tilsetning av organiske mineraler i et fôr lavt i fiskemel å kunne øke DHA nivået i fileten.

Nye fôrvarer og herunder fettkilder fører også til behov for økt kunnskap om fettkildenes innhold av uønskete stoffer og eventuelle samspill mellom utvalgte fettsyrer og kontaminanter (Søfteland m.fl., 2014; 2016). For eksempel er det vist i levercellemodeller at omega-3 fettsyren EPA og vitamin E i form av alfa-tokoferol dempet miljøgifters (en blanding av PAH og plantevernmidler) effekter på cellene, mens omega-6 fettsyren ARA og vitamin E i form av gamma-tokoferol hadde svakere effekt (Søfteland m.fl., 2016). Interaksjoner mellom fettsyrer og fettløselige forbindelser skjer på flere plan, spesielt hos fisk som også tilpasser cellemembranene etter omgivelsenes temperatur (homeoviskøs tilpasning). I en fysiokjemisk membranmodell viste miljøgiften PAH seg å øke fluiditeten til modellmembranen (Liland m.fl., 2014). Hva dette betyr for aktiviteten og funksjonen til ekte membraner fra levende celler med ulik fettsyresammensetning og under ulike temperaturer er verdt videre studier.

Oppsummert vet vi at fettkilder med sine variable og unike sammensetninger viser interaksjoner på flere områder og dette må tas hensyn til i sammensetningen av fremtidens fôr. Suboptimale nivå av mikronæringsstoff kan påvirke fettomsetning i fisken gjennom økt fettlagring i lever og rundt indre organ, samt hemme omdannelse av ALA til EPA og DHA ved begrensninger i de nødvendige kofaktorer. Innholdet av EPA og DHA, omega-6 og optimal mengde mettett fett i fôret må derfor vurderes i sammenheng med mineraler, vitaminer, andre fettløselige komponenter og kontaminanter i fôr til laks.

Tidlige livsstadier

Det er behov for mer kunnskap om hvordan fôring i tidlige livsfaser påvirker laksens fettsyremetabolisme, inkludert omega-3 fettsyremetabolisme og helse i senere livsfaser. Det finnes korttidsstudier som viser at laksens kapasitet til å omdanne ALA til EPA og DHA påvirkes av en rekke faktorer som alder, genetikk, livsfase, vanntemperatur, salinitet og fôrsammensetning (Bell m.fl. 1997; Tocher m.fl., 2000; Leaver m.fl., 2011), men det er begrenset kunnskap om betydningen av arvbar miljøpåvirkning (epigenetikk) og andre miljøforhold.

Stamfiskernæring er viktig for vellykket reproduksjon og for å sikre sunt og levedyktig avkom. I tillegg er helsestatus i senere livsstadier, til en viss grad avhengig av maternal ernæring og vekst under tidlige livsfaser. Det er tidligere vist at næringsinnhold i fôret til stamfisk kan påvirke størrelsen av egg, næringsinnhold i egg, klekking og larvekvalitet (Izquierdo m.fl., 2001).

Fettsyresammensetning av egg har en stor effekt på embryoutvikling, metamorfose og overlevelse etter klekking i ulike fiskearter (Pickova m.fl., 1997, 1999, 2007). Det er demonstrert behov for EPA og DHA i stamfisk hos flere fiskearter (Watanabe m.fl., 1984, Pickova m.fl., 2007, Watanabe og Vassallo-Agius 2003, Cerda m.fl., 1995), men hittil har man begrenset kunnskap om hvordan lave nivå av disse fettsyrene påvirker gonadeutvikling og egg- og larvekvalitet i laksefisk. Det er manglende informasjon om hvordan samspill mellom faktorer som temperatur og EPA og DHA nivå i membraner påvirker klekking og overlevelse etter klekking. I mus er det vist at interaksjon mellom miljøstress i tidlig livsfase og ernæring, slik som EPA+DHA innhold i dietten, påvirker metabolsk sårbarhet ved senere livsstadier (Bernadri, m.fl. 2013).

Epigenetikk er arvbare endringer i genuttrykk som ikke skyldes endring i DNA sekvens, men blant annet DNA metylering, som påvirkes av ernæring. Sebrafisk som ble gitt en ubalansert diett (mikronæringsstoff eller fettsyrer) i første generasjon påvirket både leverhelse (fettakkumulering i lever), genuttrykk inkludert gener involvert i kolesterolsyntesen og DNA metylering i neste generasjon (Adam m.fl., 2015, Skjærven m.fl., 2015). Disse studiene viser at det er tydelige arvbare effekter av fôrsammensetning over generasjonene, men videre studier er avgjørende for å finne ut om dette er en direkte effekt av næringsstoffsammensetning og mRNA i plommemassen, eller om det styres av DNA metylering via kjønnscellene. Det finnes ikke studier på dette i laks. Nylig ble det vist at genuttrykk blir endret etter kun en generasjon i oppdrett (Christie m.fl., 2016), derfor er det viktig å få fokus på at potensialet for å få bedre helse og vekst spenner over flere generasjoner.

Laks har høye vekstrater i tidlige vekstfaser (Terjesen m.fl., 1997), noe som betyr at næringsbalansen i denne fasen er viktig for videre utvikling, produksjonseffektivitet og robusthet. Det vil være viktig å utvikle biomarkører for tidlig livsfase som kan gjøre oss i stand til å forutsi negative konsekvenser (fenotyper) som bare blir åpenbare først senere i livet. EPA og DHA er viktig for mange prosesser i tidlige livsfaser, slik som regulering og utvikling av

organer, utvikling av nervesystemet, i energiomsetning, og for dannelse av membranstrukturer (Sargent 1995). EPA har også viktige funksjoner som forløper til eikosanoider, noe som er spesielt viktig for utvikling og vekst av fiskeembryo (Sargent 1995, Bell m.fl., 1997). Under larvestadiet er EPA+DHA mangel i andre arter vist å medføre feilpigmentering, synshemming, og avvikende adferd (Copeman m.fl., 2002, Penney m.fl., 2006, Yanes-Roca m.fl., 2009). Overgangen fra ferskvann til sjøvann innebærer store endringer i laksen, både med hensyn til endringer i metabolisme og osmoregulering. Smoltifiseringsprosessen i laks medfører endringer i syntesen av EPA og DHA, og ved overføring til sjøvann reduseres synteseaktiviteten (Bell m.fl. 1997; Tocher m.fl., 2000). Vegetabilsk olje og dermed mer omega-6 i laksens fôr under smoltifisering er vist å ha flere positive effekter; bedret osmoregulatorisk kapasitet (Bell m.fl., 1997, Tocher m.fl., 2000), økt vekst (Bendiksen m. fl., 2003), og fremmer beskyttende barriere mot patogener i tarm (Jutfelt m.fl., 2007). I tillegg er essensiell fettsyremangel vist å redusere ionepermeabiliteten i membraner hos ørret (Di Constanzo m.fl., 1983).

I laks ser tidspunkt for smoltifisering ut til å påvirke laksens kapasitet til å produsere EPA og DHA fra ALA (Østbye m.fl., 2015). Laks smoltifisert ved et senere tidspunkt (400 g) enn normalt hadde bedre kapasitet til EPA og DHA syntese og viste høyere DHA innhold i filet enn laksen som ble smoltifisert tidligere (100 g). Kapasiteten ble også ytterligere økt med økende innblanding av rapsolje i fôret. Fortsatt er det behov for mer kunnskap hvilke nivåer som dekker laksens ernæringsbehov i smoltfasen, og som bidrar til å sikre god helse i senere livsfase. Forsøk med laks har vist at fôring i perioden fra smoltifisering og opp til 400 g har signifikant betydning for innhold av EPA+DHA i filet etter 13 måneder i sjø (Ruyter m.fl., 2015). Startfôring av laks fram til 40 g med ulike nivåer av EPA+DHA i fôret ga derimot ikke signifikante utslag på fettsyresammensetningen av filet når laksen var 4 kg.

EPA og DHA er viktig for mange prosesser i tidlige livsstadier, inkludert egg-, yngel og smoltifisering, men det er usikkert hva eksakte behov er i disse fasene, og hvordan eventuell ernæringsmangel i tidlige livsfaser kan påvirke laksens helse og robusthet i seinere livsfaser. Det er klare indikasjoner på at ernæring er en viktig faktor for epigenetisk regulering i fisk, men den fysiologiske betydningen av epigenetisk regulering er det lite kunnskap om. Det er behov for mer kunnskap om hvordan fettsyrer i fôret i tidlige livsfaser påvirker laksens fettsyremetabolisme og helse i senere livsfaser.

Hvordan påvirker endringer av fett i fôr mengden i spiselig del?

Når nivået av fiskeolje i fôr til laks og ørret reduseres må den erstattes med en alternativ energikilde i form av en olje fra vegetabilsk, animalsk eller annen marin opprinnelse. Når man beveger seg ned mot minimumsbehov for EPA+DHA er det avgjørende hva fiskeoljen erstattes med, siden alle fettsyrer i ulik grad kan påvirke fiskens vekst, helse, velferd og sammensetning av spiselig del.

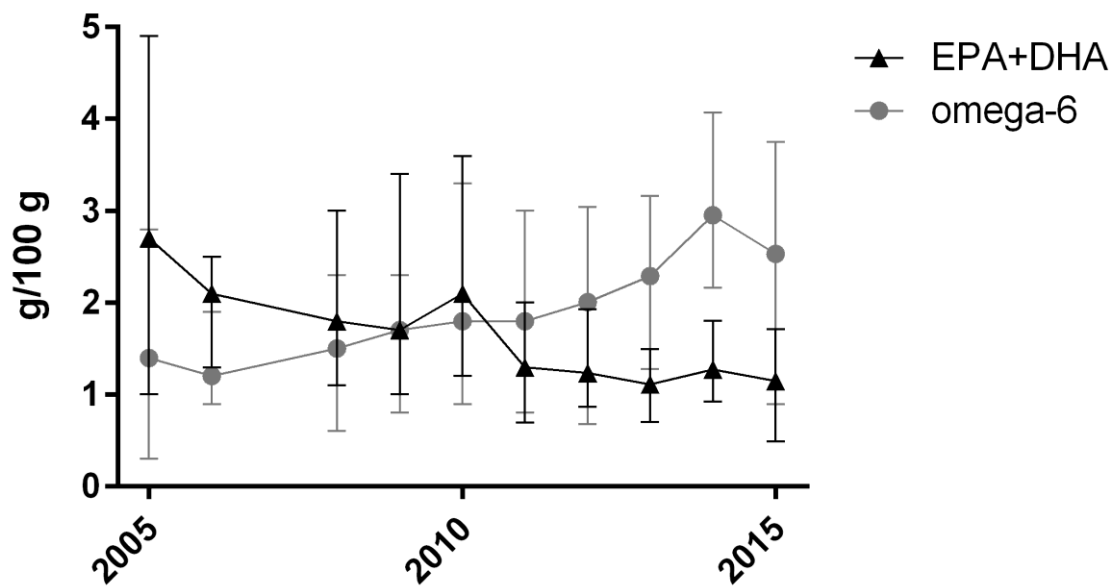
Karakteristisk for de vegetabiliske oljene som er relevante å bruke i dag, er at fettsyre-sammensetningen domineres av få fettsyrer, i motsetning til marine oljer som gjerne har en jevnere fordeling mellom mettede, enumettede og flerumettede fettsyrer (Tabell 1). Et annet viktig skille mellom de marine og de vegetabiliske oljene, er at de marine oljene har et lavt innhold av omega-6 fettsyrer. Av vegetabiliske alternativ inneholder rapsolje hovedsakelig en enumettet fettsyre (18:1n-9; oljesyre, OA), palmeolje er høy i den mettede fettsyren palmesyre (16:0), kokos inneholder kortere mettede fettsyrer (12:0 og 14:0), linfrøolje er høy i omega-3 fettsyren alpha-linolensyre (ALA, 18:3n-3), mens soya-, mais- og solsikkeolje er høye i omega-6 fettsyren linolsyre (LA, 18:2n-6). Animalske fettkilder som oljer fra kylling og svin inneholder ca like mengder 16:0 og 18:2n-6, men vil variere avhengig av deres fôrfett. Spekk (lard) inneholder mettet fett med mer 18:0. Rapsolje er det mest brukte alternativet til fiskeolje i dagens kommersielle fôr til laks og ørret. Trenden i norsk oppdrettslaks de siste 10 årene, er at vi har hatt en nedgang i innhold av EPA og DHA og en svak nedgang i mettet fett, samtidig som det har vært en økning i omega-6 og enumettede fettsyrer (se figur 15). Systematiske data før 2005 eksisterer ikke. Resultatene i denne rapporten viser at >1% EPA+DHA (antakelig mer for en robust fisk under utfordrende betingelser) er nødvendig for å dekke behovet for laks i sjøvannsfasen. Laks gitt 1,1% EPA+DHA av fôret vil fortsatt gi 1,25 g EPA+DHA i en 200g middagsporsjon (Rosenlund m.fl., 2016), noe som dekker behovet på 0.25 g definert av EFSA for fem dager (EFSA, 2011). Dette viser at laks vil forbli en god kilde til EPA og DHA også i fremtiden.

Tabell 1. Fettsyresammensetning av forskjellige oljer (vekt%). Tre eksempler på marine oljer finnes til venstre i tabellen, og eksempler på vegetabiliske oljer som er aktuelle for bruk i fôr til laks og ørret til høyre. De viktigste individuelle fettsyrene er tatt med, samt sum mettede, enumettede (MUFA), omega-6 og omega-3 fettsyrer, og tilslutt n-6/n-3 ratio.

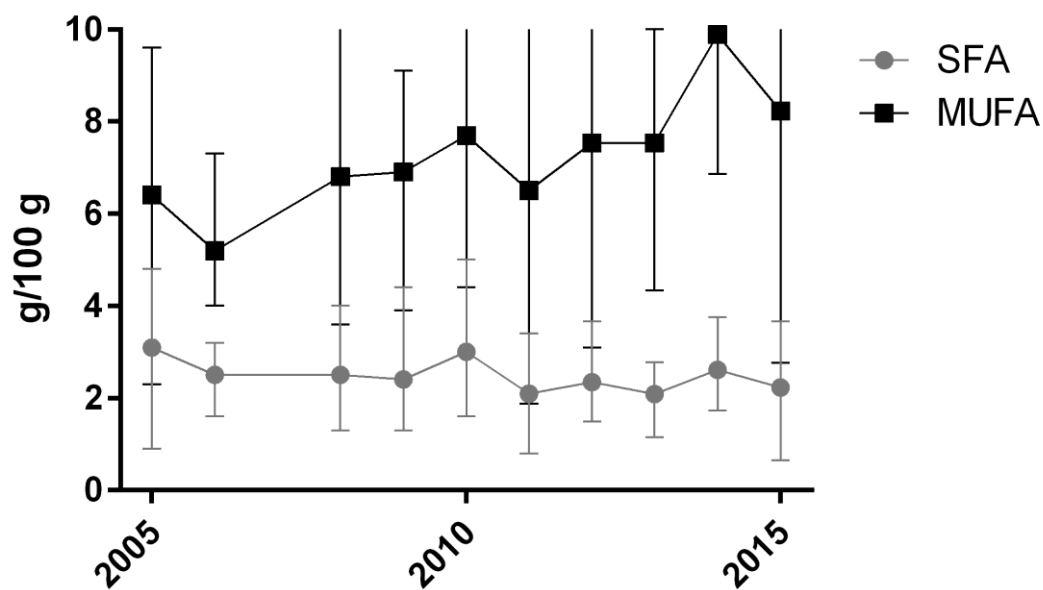
	Lodde- olje	Sardin- olje	Anchovy- olje	Krill- olje	Soya- olje	Oliven- olje	Solsikke- olje	Linfrø- olje	Palme- olje	Kokos- olje	Mais- olje	Raps- olje	Insekt- fett*
12:0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	48	-	-	40.6
14:0	6.3	7.2	7.8	16.3	-	-	0.1	0.1	1.1	24	-	0.1	8.5
16:0	11.0	16.2	18.2	19.0	10.9	11.8	6.3	5.3	40.0	9	10.3	4.7	14.8
18:0	0.9	2.9	4.2	1.4	3.9	2.5	4.9	3.2	4.1	3	1.8	1.6	2.5
Sum mettede	18.9	27.3	30.2	38.6	15.6	14.7	12.3	8.6	45.2	89	12.5	7.5	67.9
18:1n-7	1.9	3.1	-	7.8	1.3	2.2	0.7	0.7	-	-	0.6	3.0	0.4
18:1n-9 (OA)	6.7	9.3	16.0	15.8	21.9	71.4	23.0	17.1	41.1	9	31.1	56.7	8.8
20:1n-9	15.9	1.5	1.0	1.4	-	0.3	0.2	-	-	-	0.2	1.7	0.8
22:1n-11	20.2	0.9	1.6	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MUFA	56.5	25.4	29.6	38.1	23.3	75.0	23.9	17.8	41.1	-	32.0	62.2	12.2
18:2n-6 (LA)	1.3	1.1	2.8	1.6	54.3	9.5	62.5	14.3	10.8	2	54.1	19.5	17.9
20:4n-6 (ARA)	-	0.8	0.1	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
sum n-6	1.3	1.9	2.9	2.1	54.3	9.5	62.5	14.3	10.8	-	54.1	19.6	18.0
18:3n-3 (ALA)	0.7	0.6	1.8	0.8	6.5	0.7	0.5	57.0	0.3	-	1.3	9.4	1.4
18:4n-3	4.8	3.2	2.3	3.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20:5n-3 (EPA)	7.5	18.4	14.8	6.4	-	-	-	-	-	--	-	-	-
22:5n-3 (DPA)	0.6	2.2	1.8	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22:6n-3 (DHA)	5.7	12.3	10.9	2.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
sum n-3	19.8	37.7	29.3	14.6	6.5	0.7	0.5	57.0	0.3	-	1.3	9.4	1.4
n-6/n-3	0.07	0.05	0.10	0.14	8.35	13.6	125	0.25	36	-	41.6	2.1	12.9

*Black soldier fly (*Hermetica illucens*) som har spist det vanlige fôret protix bruker, som er 100% vegetabilsk, n-6 kan reduseres ved å bruke andre fôrsammensetninger til insektene (Fra prosjektet AquaFly, ledet av NIFES)

Omega-6 og EPA+DHA

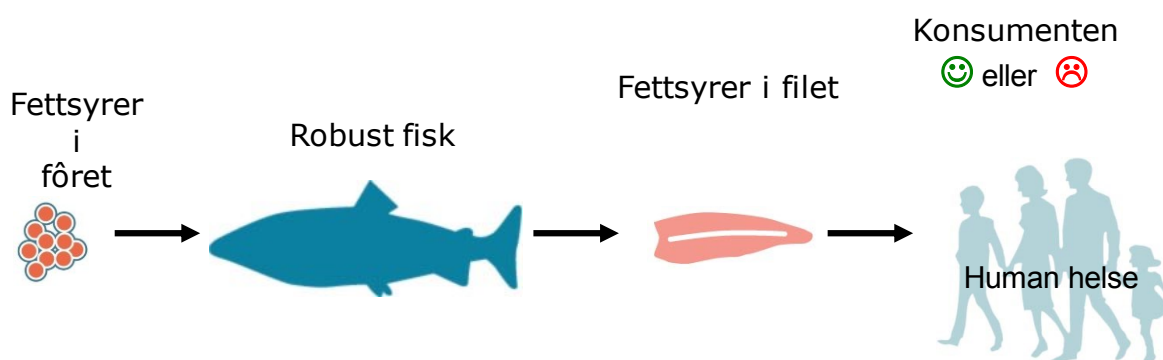


Mettet og enumettet fett



Figur 15. Figuren viser innhold av henholdsvis mettet fett (SFA), enumettet fett (MUFA), EPA+DHA og totalt innhold av omega-6 fettsyrer i g/100g filet (spredningen viser minimums- og maksimumsverdi) i norsk oppdrettslaks fra årene 2005-2015. Tallene er hentet fra NIFES sitt overvåkningsprogram (finnes på www.nifes.no/sjomatdata), og er basert på analyser av 10-85 fisk fra hvert av årene. Tilsvarende verdier i vill laks (Vossolaks, 2011, snitt av 30 individ) var 1.9 g SFA, 4.7 g MUFA, 1.7 g EPA+DHA og 0.27 g n-6 per 100 g.

“Oppdrettsfisk er hva den spiser”



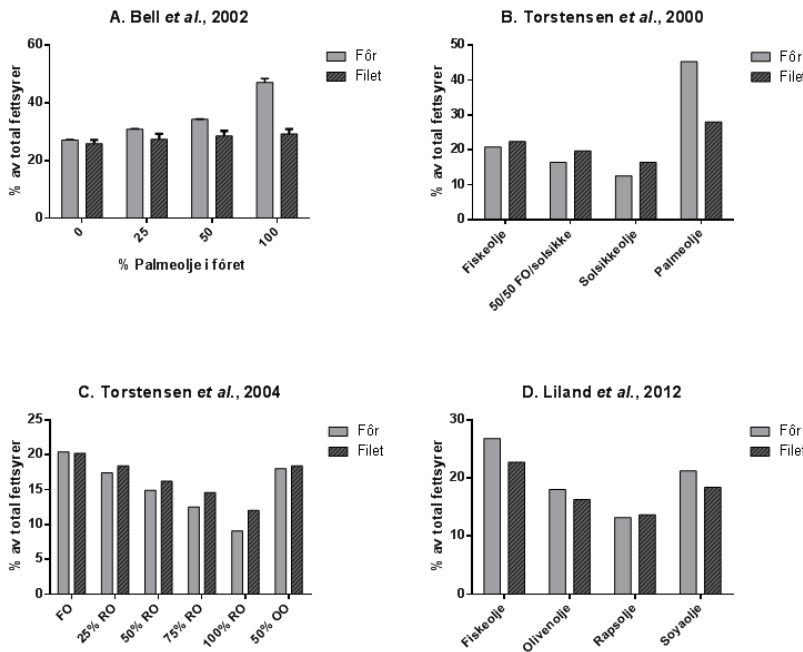
For noen fettsyrer, men ikke alle

Mettet fett

I fôr til laks og ørret er hovedkilden til mettet fett normalt fiskeolje (FO, 18-33 % mettet fett, store artsvariasjoner). Andre mulige kilder er palmeolje (45-49 % mettet fett), kokosolje og animalske biprodukter som f. eks kyllingolje (28-30 % mettet fett). Andelen mettet fett i laksefôr har gått ned over tid, da FO i økende grad erstattes med planteolje, spesielt rapsolje, som har lite mettet fett.

Hvordan endringer av andel mettet fett i fôr påvirker innhold i filet, kommer an på hvilken retning endringen skjer i. Foringsforsøk har vist at dersom andelen mettet fett økes sammenlignet med et fôr basert på FO (Figur 16), vil innhold i laksefilet ikke øke eller øke svært lite (Torstensen m.fl., 2000, Bell m.fl., 2002, Sissener m.fl., in press). Dersom andelen i fôr reduseres sammenlignet med et fôr basert på FO, vil andelen i filet også reduseres (Bell m.fl., 2001, Bell m.fl., 2004, Torstensen m.fl., 2004, Liland m.fl., 2013, Sissener m.fl., in press). Dermed kan vi konkludere med at det å *redusere* innhold av mettet fett i fôret, vil ha større innvirkning på sluttproduktet enn det å *øke* innhold av mettet fett i fôret.

Mettet fett i fôr og filet



Figur 16. Mettet fett i henholdsvis fôr og filet fra ulike forsøk. Forsøk A og B er eksempler på hvordan andel mettet fett i fileten ikke øker eller øker svært lite når andelen øker i fôret sammenlignet med en fiskeoljebasert diett. Forsøk C og D er eksempler på at andel mettet fett i fileten reduseres når andelen går ned i fôret. Resultater for diett med 100% fiskeolje av tilsatt olje vises helt til venstre på alle fire figurene.

En fordel med bruk av mettet fett er at dette regnes som ”nøytralt” i forhold til n-3/n-6 ratio, og selv om mettet fett har et (noe ufortjent?) dårlig rykte i forhold til human ernæring, vil laks uansett være en svært liten bidragsyter i et sammensatt kosthold (se figur 15). Et relativt nytt aspekt i helsedebatten er at ulike kilder til mettede fettsyrer kan ha disse plassert i ulike posisjoner på TAG-molekylet, og hos pattedyr vil fettsyrer i posisjon 1 og 3 spaltes av fra TAG under fordøyelsen, mens fettsyren i posisjon 2 hovedsakelig vil tas opp fortsatt bundet til glycerolmolekylet (Karupaiah & Sundram, 2007). Dermed kan det ha konsekvenser for fettmetabolisme og helseeffekter hvor den mettede fettsyren er plassert på TAG-molekylet. Posisjonering av fettsyrene i TAG-molekylet er imidlertid ikke nødvendig å ta hensyn til i fiskefôr, da laksen i motsetning til pattedyr ser ut til å spalte av alle tre fettsyrene før disse absorberes i tarmen (Lie m.fl., 1987, Sigurgisladottir m. fl., 1992). En konsekvens av dette er at fett i laksens vev ikke vil være avhengig av hvilken posisjon fettsyrene har i den fettkilden som brukes i fôret. Det er spesielt aktuelt for 16:0 i sn-2 posisjon i palmeolje, som dermed ikke nødvendigvis fortsetter å være i sn-2 posisjon i laksens fett.

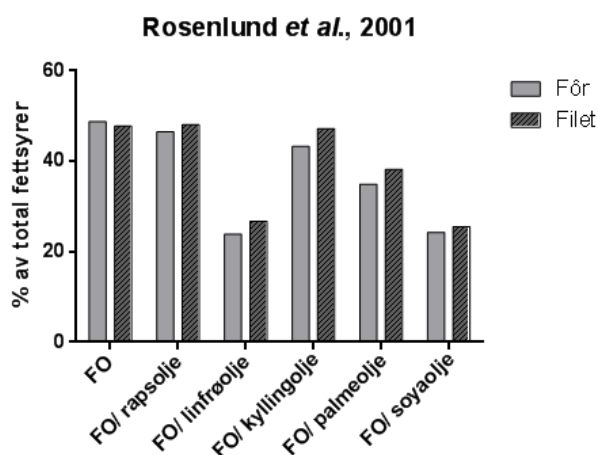
En ulempe med mettede fettsyrer er imidlertid fordøyelighet. Både temperatur, nivå av mettet fett og kjedelengde på fettsyrene påvirker fettfordøyeligheten (Torstensen m.fl., 2000, Caballero m.fl., 2002, Menoyo m.fl., 2003, Ng m.fl., 2004, Sissener m.fl., in press), der fordøyelighet går ned med synkende temperatur, økende nivå av mettet fett og økende

kjedelengde. Kjedelengden er spesielt viktig når totalt nivå av mettet fett øker, noe som betyr at fettkilder med kortkjedede mettede fettsyrer sånn som kokosolje eller fett fra insekter (Lock m.fl., 2015) kan være gode fettkilder for laks. Menoyo m.fl. (2003) foreslo at det kan være et kritisk nivå av mettet fett hvor emulsjon eller micelledannelse blir redusert. Imidlertid var dette basert på fôring av laks med to ulike nivåer av mettet fett, mens et nylig forsøk med 7 ulike nivåer heller tydet på at det er en gradvis reduksjon i fordøyelighet med økende nivå av mettet fett (Sissener m.fl., in press). Selv om fordøyelighet av alle fettsyrer til en viss grad påvirkes av økt mettet fett i fôret, er fordøyelighet av totale omega-3 fettsyrer, EPA og DHA de som er minst påvirket av alle fettsyrene.

Mens retensjon av omega-3, omega-6 og enumettet fett var svært lik mellom ulike diettgrupper på tross av store forskjeller i fettsyresammensetning i fôret, varierte retensjon av mettet fett i mye større grad (Sissener m.fl., in press). Dersom retensjonstallene ble justert for fordøyelighet varierte de fortsatt fra 70-104 % i de ulike diettgruppene, noe som tyder på en sterkere regulering av mettet fett enn andre fettsyreklasser, samt muligens at fisken må bruke energi på *de novo* produksjon av mettet fett dersom den får lite fra fôret.

Enumettet fett

Det finnes enumettet fett i ulike FO (28-53 %), i stor grad langkjedede fettsyrer med 20-24 karbonatomer (Johnsen m.fl., 2006). Planteoljer som rapsolje og olivenolje inneholder mye enumettet fett (se tabell 2), hovedsakelig med 18 karbonatomer (18:1n-9). Resultater fra forsøk viser at andel enumettet fett i fôr i stor grad gjenspeiles i filet, som for eksempel vist av Rosenlund m. fl. (2001, Figure 17).

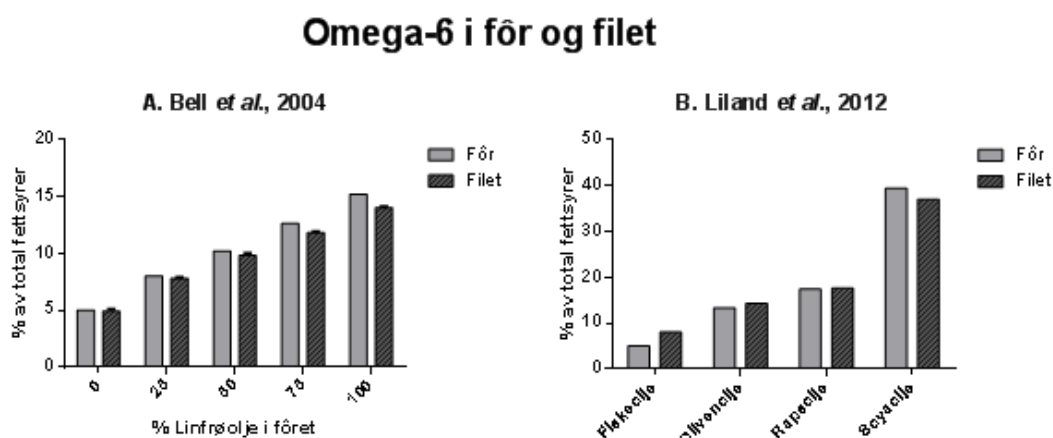


Figur 17. Enumettet fett i henholdsvis fôr og filet med ulike dietter basert på fiskeolje (FO) fra lodde og blandinger av fiskeolje med ulike planteoljer og kyllingolje.

Fordøyelighet av enumettede fettsyrer er generelt høy (>90%), også ved lave temperaturer (Ng m.fl., 2004), men ikke like høy som for flerumettede fettsyrer (Johnsen m.fl., 2006). Som for mettet fett går fordøyeligheten ned med økende kjedelengde. Enumettet fett regnes som ”nøytral” i forhold til n-3/n-6 ratio, og anses som positivt i forhold til human ernæring.

Omega-6

Fiskeolje har lite omega-6 (<5 % av fettsyrene), mens innholdet av omega-6 i planteoljer varierer mye; soya, mais- og konvensjonell solsikkeolje har høyt innhold (>50 % av fettsyrene), mens oliven-, linfrø- og palmeolje er i andre enden av skalaen med ~10 % omega-6 fettsyrer, mens rapsolje har ~20% (se tabell 1). Imidlertid har selv planteoljer som regnes som lave på omega-6 over dobbelt så høyt innhold av disse som fiskeolje. Innhold av omega-6 i fôret gjenspeiles i stor grad i fileten (se eksempler i Figur 18).



Figur 18. Omega-6 i henholdsvis fôr og filet. Begge eksemplene viser hvordan andelen omega-6 i filet øker med økende andel i fôr. Total mengde er imidlertid svært avhengig av hvilken planteolje som benyttes, fra 10-15% når all FO er byttet ut med linfrø-, oliven- eller rapsolje (A og B) til 37% når soyaolje benyttes (B).

Fordøyelighet av flerumettet fett er bedre enn enumettet og mettet fett (Johnsen m.fl., 2006, Sigurgisladottir m.fl., 1992).

Det viktigste er kanskje de negative egenskaper av omega-6 fettsyrer i kosthold til folk. Dessverre ser dette også ut til å gjelde omega-6 fra laks, da en diett med soyaolje-fôret laks som

inneholder mye omega-6 førte til insulinresistens, fettakkumulering i lever og overvekt hos mus (Alvheim m.fl., 2013, Midtbø m.fl., 2013).

Forholdet mellom omega-3 og omega-6

Både for folk og fisk er det mengden EPA og DHA som er i kroppen som er avgjørende for helsen, ikke kun hvor mye EPA og DHA som spises i mat eller fôr. I cellemembranene konkurrerer omega-6 fettsyrene med EPA+DHA om de samme posisjonene i fosfolipidene. I den amerikanske befolkning, som har et høyt omega-6 inntak (Blasbalg m.fl. 2011), betyr det at inntaket av EPA+DHA må justeres opp tilsvarende for å oppnå ønsket omega-3 status i cellene og beskyttelse mot blant annet utvikling av hjerte kar sykdom (Harris, 2007).

Det ser ut til at dette også er tilfelle hos laks, da fisk som fikk like nivå av EPA, DHA og totale omega-3 fettsyrer i fôret, men ulike nivå av omega-6 fettsyren 18:2n-6 (LA), hadde ulike nivå av DHA og spesielt EPA i de polare lipidene i lever, hjerte og røde blodceller (Sissener m.fl., in prep). Dette kan tyde på at fiskens ernæringsbehov for EPA og DHA vil variere noe avhengig av fettsyresammensetningen på fôret for øvrig, da virkningsmekanismer vist så langt for positive helseeffekter av de langkjedede omega-3 fettsyrene EPA og DHA starter med inkorporering av disse i cellemembranene.

Mengden EPA+DHA i filet (som er hovedsakelig lagringsfett) var imidlertid konstant, og ikke påvirket av n-6/n-3 ratio, noe som også støttes av observasjoner gjort i et tidligere forsøk (Liland m.fl. 2013). Mengde EPA+DHA i fosfolipidene i cellemembraner var ikke målt i det forsøket (Liland m.fl. 2013).



Omega-3 og omega-6 konkurrerer også om de samme enzymsystemene i syntesen av lange flerumettede fettsyrer fra 18:2n-6 (LA) og 18:3n-3 (ALA). Hvordan omega-6 fettsyrer påvirker omdanningen av ALA til EPA og DHA diskuteres i kapittelet «Optimalisering av fettsyrer i fôr for EPA og DHA retensjon». Tidligere forsøk har vist at ALA også påvirker omega-6 fettsyremetabolismen. Laks som manglet både ALA, EPA og DHA i fôret i ferskvannsfasen viste relativt høy kapasitet til å omdanne 18:2n-6 til 22:5n-6 (Ruyter m.fl., 1999, Thomassen m.fl., 2016 akseptert manuskript), mens produksjon av 22:5n-6 ikke ble detektert dersom n-3 fettsyrer var tilstede i fôret. Dette tyder på at omega-3 fettsyrer i relativt stor grad er i stand til å hemme de siste trinnene fra 20:4n-6 (ARA) til 22:5n-6 i omega-6 syntesen i laks. Dette er i overensstemmelse med en nyere behovsstudie med laks fra sjøvannsfasen hvor fôret manglet EPA og DHA, men inneholdt 18:3n-3, og her fant man ingen omdanning fra 18:2n-6 til 22:5n-6 (Bou m.fl., in prep)

Omega-3 og omega-6 fettsyrer, spesielt EPA og ARA, konkurrerer også om enzymsystemene for å produsere signalstoffene eikosanoider. Eikosanoider produsert fra omega-6 fettsyrer har oftest en annen biologisk effekt eller er mer potent enn eikosanoider produsert fra omega-3 fettsyrer, og forenklet sier man ofte at omega-6 eikosanoider fremmer betennelse (inflammasjon) mens omega-3 eikosanoider hemmer betennelse. Når laks føres med soyaolje med høy omega-6 finner man mer av omega-6 eikosanoider i plasma (Martens m.fl. 2011, Sissener m.fl., in prep). Imidlertid er eikosanoider stoffer som produseres og virker lokalt i de ulike vevene, og ved analyse av eikosanoider i lever fra samme forsøk (Sissener m.fl., in prep), var bildet et annet og mer komplekst. Disse resultatene tyder på at det ikke er noen lineær sammenheng mellom økende omega-6 i fôr/cellemembraner og økende produksjon av omega-6 eikosanoider, og at det muligens er ulikheter mellom fisk og pattedyr i disse responsene. Et tidligere forsøk viste økt eikosanoidproduksjon når 50% av FO var byttet ut med soyaolje i fôret til laks, men redusert produksjon igjen med 100% soyaolje i fôret (Gjøen m.fl., 2004), noe som støtter at bildet er mer komplekst enn en lineær forklaringsmodell.

Oppsummert vet vi at når mengden enumettet og omega-6 fett i fôret øker så øker mengden tilsvarende i filet. Mettet fett, derimot, øker ikke når mengden mettet fett i fôr øker, men reduseres i filet når innhold i fôret reduseres sammenlignet med et fiskeoljefôr. Retensjonen av mettet fett ser ut til å være mer regulert enn enumettet fett og omega-6, og at fisken har en svært høy retensjon/antakelig en egenproduksjon av disse når det er lite i fôret, viser at de spiller en viktig rolle. Det er utfordringer med fordøyelighet ift mettet fett, men i mindre grad

for kortkjedede mettede fettsyrer, og fordøyeligheten av omega-3 fettsyrer påvirkes svært lite i et fôr med mye mettett fett. Omega-6 i fôret har ikke negativ effekt på retensjon og innhold av omega-3 fettsyrer i helfisk/filet (som hovedsakelig er lagringsfett), men sammensetningen i cellemembranene, og dermed antakelig også EPA og DHA behovet, påvirkes. Fettsyresammensetning i fôret påvirker produksjon av eikosanoider, men virkningsmekansimene og sammenhengene her er komplekse.

Med stadig lavere innhold av mettett fett i fôret er det nødvendig å avklare hvilken rolle mettett fett spiller for fiskens helse, og eventuelt etablere en nedre grense for innhold i fôret. Det er også viktig å se videre på hvordan EPA og DHA innhold i cellemembranene påvirkes av omega-6 fettsyrer, slik at en kan utnytte begrensede EPA og DHA ressurser på en effektiv måte for å gi størst mulig helsegevinster for fisken.



Strategier for å optimalisere lagring av EPA og DHA

Uavhengig av hvor langt ned man kan gå i EPA og DHA av hensyn til fiskens behov, vil en reduksjon i fôret ha konsekvenser for sammensetning av filet. Dette gjør det viktig å finne gode strategier for å optimalisere nivået av EPA og DHA i den spiselige delen av fisken. Retensjon av EPA og DHA kan avhenge av faktorer som fiskens genetiske bakgrunn, fôrets fettsyre-sammensetning og sesongvariasjoner i fettlagring.

Sesongvariasjoner i fettlagring

Fettinnholdet i laks og ørret er regulert av en rekke faktorer. Generelt er fett og fettsyrenivået i laks og ørret funnet å øke i takt med økende fiskestørrelse (Shearer m.fl. 1994; Hemre & Sandnes 1999), fôrrasjon/fôrinntak (Hillestad m.fl. 1998; Einen m.fl. 1999) og økt mengde fett i fôret (Aksnes 1995, Hemre & Sandnes 1999; Torstensen m.fl. 2001). Flere studier har også rapportert om sesongmessige endringer i omsetning, deponering og forbrenning av lipider (Aksnes m.fl. 1986; Hemre og Sandnes, 1998; Einen m.fl. 1999; Mørkøre & Rørvik, 2001; Nordgarden m. fl. 2003). Laksens deponering og retensjon av fett har vist seg å være dynamisk og mer årstidsavhengig enn f.eks retensjonen av protein (Alne m.fl. 2011). Spesielt har høsten vist seg å være en periode med høy retensjon og akkumulering av fett (Hemre og Sandnes, 1998; Mørkøre og Rørvik, 2000; Nordgarden m.fl. 2003; Alne m.fl. 2011). Dette har blitt vist for både 1- og 0-årig smolt, hvor retensjonen av fett om høsten var opptil fem ganger høyere enn om våren (Alne m.fl., 2011).

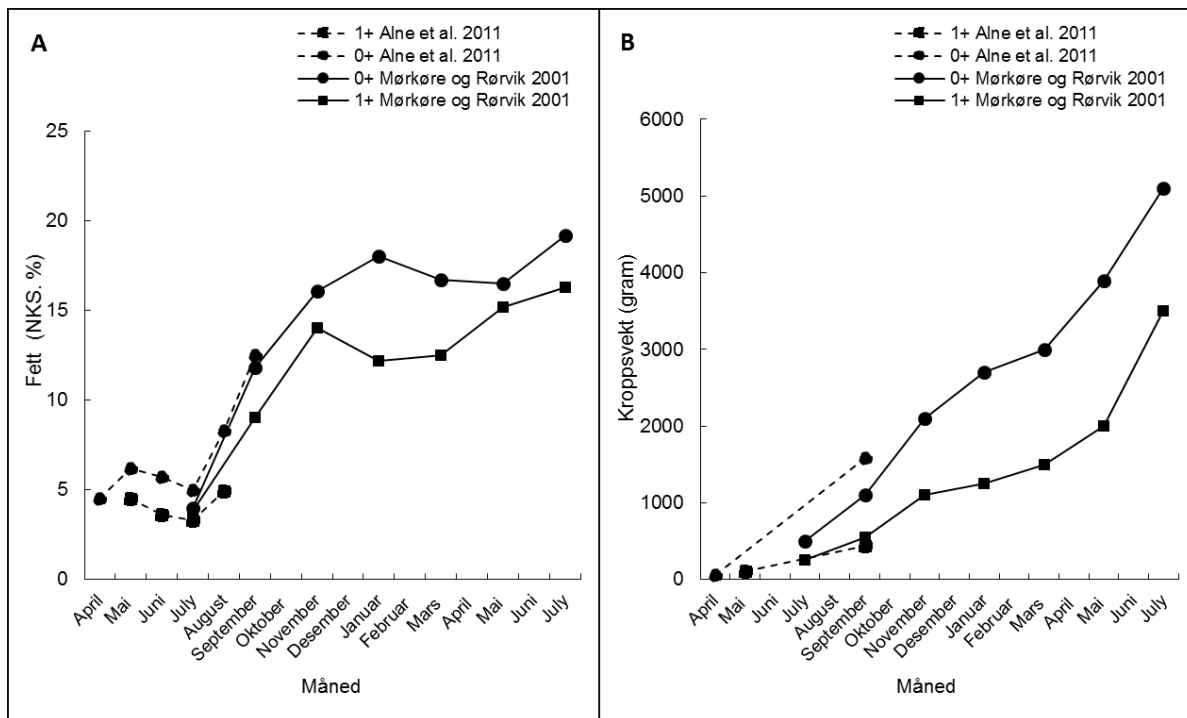
Økt fettretensjon korrelerer ofte med økt inntak av energi og fett (Grisedale-Helland m.fl. 2013), og dette gjør fôrinntaket til en viktig faktor som i stor grad påvirker fettretensjonen. Høstperioden har fallende daglengde og høye vanntemperaturer, noe som har vist seg å kunne øke fôrinntaket hos laks (Mørkøre & Rørvik 2001; Oehme m.fl. 2010; Alne m.fl. 2011). I vinterperioden har enkelte studier rapportert om en nedgang eller stagnasjon i nivået av muskelfett hos laks (Aksnes m.fl. 1986; Einen m.fl. 1999; Mørkøre & Rørvik, 2001; Nordgarden m.fl. 2003). Det er tidligere vist at den relative kapasiteten for forbrenning av lipider hos ørret kan øke ved kalde vanntemperaturer, selv om den aerobiske kapasiteten er uendret eller redusert (Guderley & Gawlicka 1992; Thibault m.fl. 1997). Samtidig reduseres appetitten hos laksefisk ved lave vanntemperaturer.

Hos laks har det blitt vist at fettforbrenningskapasiteten kan endres med både livsfase og årstid (Nordgarden m.fl. 2003; Stubhaug m.fl. 2007). I Nordgarden m.fl. (2003) ble det observert en økning i fettforbrenningskapasiteten om våren, som igjen sammenfalt med økt vekstrate og et redusert nivå av enumettede fettsyrer i muskel. Dette kan indikere at behovet for energi i denne perioden induserte en økning i oksidasjon av lipider, hvor hovedsakelig enumettede fettsyrer ble foretrukket som energisubstrat.

Alne m. fl. (2011) observerte en nedgang i nivået av muskelfett for både 1+ og 0+ første vår i sjø. I dette studiet sammenfalt nedgangen i muskelfett med redusert fôrinntak, samtidig ble det detektert et naturlig utbrudd av hjerte- og skjelettmuskelbetennelse (HSMB) hos 0-åringen i etterkant av nedgangen i fett og appetitt (Alne m.fl. 2009; Alne m.fl. 2011). Utbrudd av sykdommer som HSMB og pankreas sykdom (PD) blir ofte observert i vårperioden for 0-åring (Olsen m. fl. 2012), mens vårusatt 1-åring ofte får utbrudd av infeksjøs pankreas nekrose (IPN) i ukene etter utsett (Bowden m.fl. 2002; Rørvik m.fl. 2007). Problemet med IPN har i det siste blitt redusert betraktelig på grunn av målrettet avl (Moen m.fl. 2009).

Fettlagringen hos laks er sterkt influert av daglengde og bruk av kunstig lys for å endre daglengden har vist seg å ha stor innvirkning på vekst og deponering av fett (Oppedal m.fl. 2006). Daglengen influerer en rekke biologiske prosesser hos laks og blir ofte brukt i produksjonssammenheng for å fremskynde smoltifisering eller utsette kjønnsmodning (Duston 1995; Oppedal m.fl. 2006). I forbindelse med smoltifisering har det blitt observert en økning i fettforbrenningskapasiteten i både lever og muskel rett før utsett i sjø (Stubhaug m. fl. 2007). På grunn av at fettlagring hos laks er påvirket av en rekke faktorer er det komplekst og vanskelig å isolere rene sesongvariasjoner i lagringen av fett.

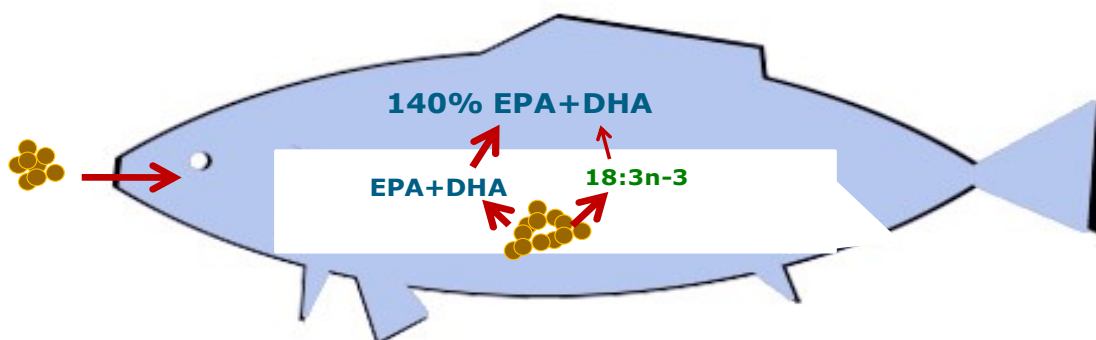
Figur 19 viser typiske variasjoner i muskelfettet og utvikling i kroppsvekt for henholdsvis 0-åring og 1-åring (Mørkøre & Rørvik 2001; Alne m.fl. 2011) oppdrettet ved 62°N i Norge. Vi ser at muskelfettet øker med økende kroppsvekt, men at vi kan antyde tendenser til sesongvariasjoner i fettnivå; noe nedgang om våren, økning på høsten og stagnasjon om vinter før det øker noe påfølgende vår.



Figur 19; Fett% i muskel (norsk kvalitetssnitt, NKS) og vekst til laks ved ulike årstider

Optimalisering av fettsyrer i fôr for EPA og DHA retensjon

Både laks og ørret har potensiale til å ha en netto produksjon av DHA, og til en viss grad EPA (Sanden m.fl., 2011, Turchini m.fl., 2011, Rosenlund m.fl., 2016). Generelt er retensjonen høyest for DHA, og et langtidsstudie av laks i sjøvannsfasen ga netto produksjon av DHA når laksen spiste fra ca 1,5 % ned til 0,5 % EPA+DHA av fôret gjennom store deler av sjøvannsfasen (150 g til 3 kg) (Rosenlund m.fl., 2016). Ved de laveste fôrnivåene av EPA+DHA, var DHA retensjonen opp mot 200 %, dvs at man fant igjen dobbelt så mye DHA i fisken som det den hadde blitt tilført gjennom fôret. Imidlertid viste det seg at de laveste nivåene brukt i dette forsøket ikke var tilstrekkelige til å møte fiskens behov for optimal vekst og for å opprettholde DHA-nivå i viktige vev som røde blodceller, hjerne og netthinne (Rosenlund m.fl., 2016, Sissener m.fl., 2016). Glencross m.fl. (2014) viste også høye retensjonsverdier for DHA på ~250 % ved mangel på denne fettsyren i fôret. Det er en velkjent effekt at økt DHA i fôret reduserer retensjonen (Tocher m.fl., 1997, Thomassen m.fl., 2012).



Figur 20; Laks har potensiale til å være en EPA og DHA fabrikk.

Det har blitt spekulert om at mengden ALA i fôret begrenser kjedeforlengelse (elongering) og avmetning (desaturering) til EPA og DHA både i regnbueørret og i laks (Ruyter m.fl., 2000, Thanuthong m.fl., 2011, Liland m.fl., 2013), men har vært uvisst hvor mye som er tilstrekkelig. Et nylig avsluttet forsøk viste at 5% av fettsyrene som ALA (diett med 20% av olje som FO og 80% soyaolje), både ga netto produksjon av DHA og like høy DHA retensjon som dietter der linfrøolje var tilsatt for å øke ALA-innhold til 10% (Sissener m.fl., in press). Dette tyder på at 5% ALA av fettsyrene er tilstrekkelig, som er ca det nivået man vil oppnå med 80% innblanding av raps- eller soyaolje i dietten. Det har blitt vist i regnbueørret at mesteparten av ALA lagres (58%), en stor del forbrennes (30%) mens bare en liten andel (12%) omdannes til lengre og mer umettede fettsyrer (Turchini & Francis, 2009). I et forsøk med Atlantisk laks (Ruyter m.fl., 2000), førte et fôr med moderat nivå av 18:3n-3 til en moderat økning i nivået av DHA. Høyere nivå av 18:3n-3 i fôret resulterte hovedsakelig i akkumulering av EPA, og ikke til en ytterligere økning i andelen av DHA. Begrenset omdanning til 22:6n-3, kan skyldes konkurranse mellom 18:3n-3 og 24:5n-3 om $\Delta 6$ desaturase. Dette tyder på at det er viktig å ta hensyn til ratioen mellom ulike 18 karbonfettsyrer i fôret til laks for best mulig omdanning til DHA. En nyere studie tyder på at effektiviteten av omdanningen fra ALA til EPA+DHA i stor grad kan påvirkes av nivåene av de ulike n-3 fettsyrene i fôret (Bou m.fl., manuskript under bearbeiding). I denne studien ble laks fôret med 14 forskjellige dietter med ulike nivåer av EPA, DHA eller en (1:1) blanding av EPA og DHA (0%, 0,5%, 1%, 1,5% og 2% i fôret) i sjøvannsfasen fra 40 gram til 400 gram. Nivået av 18:3n-3 var likt i alle diettgrupper. Laksens evne til egenproduksjon av

EPA og DHA fra ALA, var høy når EPA+DHA utgjorde under 1% av fôret (retensjon > 100%). Ved høyere nivå enn 1% i fôret, ble retensjonen av EPA og DHA redusert (< 100%). Dersom laksen manglet både EPA og DHA, så ble ALA i meget stor grad omdannet til EPA og DHA. Laks fôret med økende nivå av EPA, uten DHA tilstede i fôret, omdannet også EPA i stor grad til DHA. Laksen i samme studie ble etter 400 grams størrelse fôret videre med henholdsvis 0,2%, 1% og 1,7% EPA + DHA i fôret fram til en størrelse på 3,5 kg. Muskel til laksen på 3,5 kg inneholdt 0,3 gram EPA+DHA per 100 g filet i 0,2% gruppen sammenlignet med 0,5 gram i 1% gruppen og 0,6 gram i 1,7% gruppen. Dette betyr at det meste av EPA og DHA som finnes i muskelen til laksen i 0,2% gruppen har den produsert selv fra ALA tilstede i fôret.

Stearidonsyre (SDA, 18:4n-3) har blitt foreslått som en mer effektiv forløper enn ALA for syntese av EPA og DHA, men fôringsforsøk med laks i sjøvannsfasen har ikke støttet dette (Miller m.fl., 2008, Codabaccus m.fl., 2011, Ewos ISFNF Molde 2012). Verken echiumolje, men høyt naturlig innhold av SDA, eller genmodifisert soyaolje med høy SDA, så ut til å gi bedre resultater enn rapsolje med ALA. Høyt innhold i fôr av EPA (fra genmodifisert gjær) ga heller ikke signifikant høyere DHA-retensjon enn fôr med rapsolje (Hatlen m. fl. 2012a). Både laks fôret med rapsolje og EPA-rik gjær hadde retensjonsverdier for DHA over 100%. Retensjonen av DPA (22:5n-3) var betraktelig høyere enn for DHA, noe som kan tyde på at begrensningen ligger i omdanning fra DPA til DHA (Hatlen m.fl. 2012a), selv om retensjonstall for DPA er noe usikre pga lave nivåer i fôrene. Disse prosessene påvirkes også av ulike råvarer i fôret, f.eks ga fôr med animalske biprodukter med høyt innhold av DPA redusert omdanning fra EPA til DPA, og økt EPA-retensjon (Hatlen m.fl. 2012b).

Det er kjent fra andre arter at et høyt inntak av omega-6 reduserer omdanning av ALA (18:3n-3) til EPA og DHA fordi omega-3 og omega-6 konkurrerer om de samme enzymene i omdanning til lengre og mer umettede fettsyrer. Imidlertid har disse enzymene en mye høyere affinitet for fettsyrer fra omega-3 familien, slik at omdannelse av LA blir sterkt hemmet av ALA, mens ti ganger høyere nivåer er nødvendig for en tilsvarende hemming av ALA-omdanning fra LA (oversiktsartikkel Holman, 1998). Et nylig avsluttet fôringsforsøk viste at LA/ALA ratioer på 1.1 til 8.6 (der den høyeste ratioen representerer en diett med ~20% FO og ~80% soyaolje), ikke hadde noen negativ påvirkning på retensjonen av EPA og DHA. Faktisk var det heller en svak positiv effekt av økende omega-6 innhold i fôret på DHA retensjon (Sissener m. fl. in press). Lignende tendenser har også vært observert i fôringsforsøk med laks

og regnbueørret tidligere (Caballero m.fl., 2002, Tocher m.fl., 2003, Ruyter m.fl., 2003). Effekten var imidlertid liten, og kombinert med at økt omega-6 innhold i fillet er uønsket, vil ikke dette være noen velegnet strategi for å øke DHA-innholdet i fillet.

Det har vært noen spekulasjoner rundt hvorvidt enumettet fett og spesielt mettet fett kan ha en «omega-3 sparende effekt». I Murray cod (*Maccullochella peelii*), ga høye fôrnivåer av enumetta og metta fett økt deponering av omega-3 fettsyrer i filet (Turchini m. fl., 2011). I et tilsvarende studie med regnbueørret så man ingen slik effekt av enumettet og mettet fett, men heller av omega-6 fettsyrer (Francis m.fl., 2014), noe som kan tyde på artsforskjeller. Det er nylig vist at laks fôret med en diett rik på den marine monoumettede fettsyren ketolinsyre (22:1n-11), har økt kapasitet til å omdanne ALA til EPA og DHA. (Ruyter m.fl., 2016b). Flere forsøk med Atlantisk laks har vist økt innhold av omega-3 fettsyrer i fisk fôret med økte nivå av mettet fett (Menoyo m.fl., 2003, Codabaccus m.fl., 2012, Emery m.fl., 2014), men mekanismen bak denne effekten er uviss. Når mettet fett i fôret øker over 27-29 %, vil det ikke bli noen økning over dette i fisken, uansett hvor mye som tilsettes i fôret (Torstensen m. fl., 2000, Bell m.fl., 2002, Sissener m.fl., in press). Dette betyr antakelig at mettet fett i økende grad blir brukt til forbrenning og dermed muligens kan redusere forbrenning av omega-3 fettsyrer. Imidlertid er fordøyelse en kompliserende faktor her som ikke har blitt tatt høyde for i flere av studiene. Siden omega-3 fettsyrer, inkludert EPA og DHA, er de fettsyrene som blir minst påvirket av redusert fordøyelighet med økende mettet fett i fôret, vil disse fettsyrene utgjøre en økt prosentandel av absorberte fettsyrer, og kan dermed bidra til å øke prosentandelen omega-3 fettsyrer i fisken, men ikke økt retensjon av disse fettsyrene (Sissener m.fl., in press).

Oppsummert kan laksen være en netto produsent av DHA og i noen tilfeller EPA, men de høyeste retensjonstallene oppnås ved EPA+DHA nivå <1% av fôret, og da blir ikke laksens eget behov for optimal vekst og helse ivaretatt. Produksjon av EPA og DHA fra ALA hemmes av økende DHA innhold i fôret. ALA må selvfølgelig være tilstede for å få en produksjon av EPA og DHA, men å øke nivå av ALA fra 5 til 10% av fettsyrene f.eks ved å tilsette linfrøolje gir ingen økning i retensjon. Det meste av enumettet og mettet ser ut til å ha liten/ingen betydning for retensjon av EPA og DHA, med unntak av den marine 22:1n-11 som har en positiv effekt. Omega-6 er også vist å ha en svak positiv effekt.

Det er usikkert hvordan nye omega-3 kilder, som f.eks alger og genmodifiserte oljer, som ofte kun er anriket med en omega-3 fettsyre (enten EPA eller DHA) vil påvirke retensjon.

Nye kilder til EPA og/eller DHA

Tilgangen på fiskeolje som kilde til EPA og DHA er som nevnt i tidligere kapitler begrenset. Produksjon av helt nye kilder ser ut til å være den eneste løsningen på den stadig økende globale etterspørselen etter EPA og DHA. Blant nye lovende EPA og / eller DHA- kilder, som kan produseres *de novo*, kan nevnes marine mikroalger som er rike på DHA (Kousoulaki m.fl. 2015), genetisk modifiserte encellede organismer som gjær (*Yarrowia lipolytica*) rik på EPA (Hatlen m.fl. 2012) og ulike alger som f.eks *Phaeodactylum tricornutum* (brunalge) rik på DHA (Hamilton m.fl. 2014). Genmodifiserte oljevekster som kamelina rik på EPA (Betancor m.fl. 2015) og canola (raps) rik på DHA er også lovende nye kilder (<http://nuseed.com/eu/corporate-news/sustainable-dha-omega-3-canola-closer-reality/>).

I motsetning til tradisjonelle fiskeoljer som inneholder både DHA og EPA, så kjennetegnes de nye kildene ofte med at de er rik på enten EPA eller DHA. Det må også nevnes at det er store forskjeller mellom ulike fiskeoljers nivå av EPA og DHA. Sør-amerikanske fiskeoljer inneholder gjerne mer EPA enn DHA, mens bildet er motsatt for Nordatlantiske fiskeoljer. Man vet at EPA og DHA har ulike fysiologiske funksjoner i kroppen og kan bli metabolisert og deponert i vev i ulik grad, noe som antagelig er med på å bestemme fiskens behov for disse essensielle fettsyrene i fôret. Det er kjent at EPA i stor grad kan forbrennes som energikilde og omdannes til DHA, men kapasiteten bestemmes av både ALA og DHA tilstede i fôret og i fisken. Det er også kjent at DHA kan omdannes til EPA, men tidligere studier tyder på at denne omdanningen er relativt begrenset, mens kapasiteten er vist å stimuleres ved mangel på EPA og DHA i fôret (Ruyter m.fl. 1999). Men EPA kan også dannes fra ALA tilstede i fôret. Nye studier med Atlantisk laks viste at EPA i stor grad ble β -oksidert og ineffektivt deponert i vev, mens DHA i stor grad ble spart fra katabolisme og svært effektivt deponert i fisken (Emery m.fl. 2016, Turchini m.fl., 2014). Grad av deponering av fettsyrer fra fôret i fisken vil antagelig også være avhengig av størrelse på fisken og årstid, som beskrevet i kapittelet over. En bedre forståelse av hvordan fisken utnytter EPA sammenlignet med DHA i ulike livsfaser og miljø er nødvendig for å utnytte de nye EPA og eller DHA kildene mest mulig ressursøkonomisk. Det er viktig at man samtidig ser på optimal ratio av både ALA:EPA:DHA og hvordan omega-3 metabolismen påvirkes av det totale fettnivået i fôret.

Ressursregnskap for EPA og DHA utnyttelse

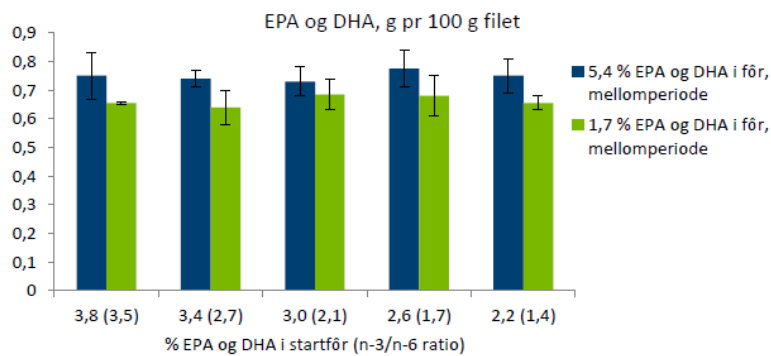
En del studier har brukt slutfôring med et fôr som er rikt på fiskeolje som en strategi for å øke nivået av EPA og DHA i filet hos laks og ørret som i tidligere vekstfasen har spist fôr med lite eller ingen fiskeolje (Bell m.fl. 2003; Torstensen m.fl., 2005; Torstensen m.fl., 2008; Glencross & Turchini 2010; Thanuthong m.fl., 2012; Waagbø m.fl. 2013). I tillegg viser avsnittet om sesongvariasjon i fettlagring at man kan øke nivået av EPA og DHA i filet før slakt ved å utnytte økt kapasitet til fettlagring om høsten. Studiene over inneholder for øvrig ikke informasjon om det totale ressursregnskapet for EPA og DHA gjennom hele livssyklus, dvs total mengde EPA og DHA benyttet i fôr gjennom hele livssyklus sammenlignet med total mengde EPA og DHA gjenfunnet i filet til laks av slaktestørrelse. Det er for øvrig gjennomført en studie som tyder på at ulike fôringsregimer, hvor man veksler på å fôre med høye og lave nivå av EPA og DHA i ulike livsfaser, gir samme EPA og DHA nivå i filet ved slakt (Trygve Sigholt (Biomar) pers. med). Man vet ikke med sikkerhet om det er mulig å spare EPA og DHA dersom fôret inneholder høye nivå av EPA og DHA når fisken er liten og med relativt lavt fôrinntak og videre mindre EPA og DHA i fôr når fisken er stor og med høyere fôrinntak, dvs omvendt fôringsstrategi av slutfôring beskrevet over. For å kunne utnytte en begrenset ressurs på best mulig måte, vil det derfor være viktig med ny kunnskap om det totale ressursregnskap gjennom hele livsløpet når ulike fôringsstrategier benyttes.

I FHF prosjektet 900770 (delrapport-1, Ruyter m.fl., 2015) ble det testet om EPA og DHA nivået i fôret i tidlige livsfaser ville påvirke nivået av disse fett-syrene i muskelen til laks når den nådde en sluttvekt på 4 kg. Nivået av EPA+DHA i fasen



fra startfôring og frem til 40 grams fiskestørrelse påvirket ikke fett-syresammensetningen av muskel når laksen nådde 4 kg. Fra 40 gram til 400 gram ble laksen fôret med henholdsvis 5,4% og 1,7% EPA+DHA i fôret. Fra 400 gram fram til slaktestørrelse på 4 kg, ble den fôret med 1%

EPA+DHA i fôret. EPA+DHA nivået i filet i 4 kg laks var signifikant høyere i fisk fôret med det høyeste nivået av EPA og DHA i fôret i perioden fra 40 gram til 400 gram, noe som viser at tidlig fôring har betydning for fettsyresammensetningen i fisken på slaktestørrelse når den fôres med lavt nivå (1% EPA+DHA) i siste fase i sjø (se figur under). Denne studien kan tyde på at det er mulig å spare EPA og DHA dersom fôret inneholder høye nivå av EPA og DHA når fisken er liten og med relativt lavt fôrinntak og videre mindre EPA og DHA i fôr når fisken er stor og med høyere fôrinntak, men dette vil antagelig også påvirkes av årstid.



Figur 18 Viser EPA + DHA som gram EPA+DHA per 100 gram filet og som effekt av startfôring (X akse) og mellomfôring (5,4% blå stolpe, 1,7% grønn stolpe). Effekt av mellomfôring, $p=0,03$.

Det er også viktig med kunnskap om hvordan endringer i fôrsammensetning påvirker EPA og DHA utnyttelsen i en praktisk oppdrettssituasjon. Når man tar utgangspunkt i total mengde EPA og DHA fra fiskeolje benyttet i fôret til laks i norsk oppdrett i 2012 (Ytrestøyl m.fl. 2015), var retensjonen av EPA og DHA på 46% i hel kropp og 26% i filet. Dette er lavere retensjonsverdier enn det man normalt finner i kontrollerte forsøk og skyldes at data fra praktisk produksjon også omfatter både dødelighet og fôrspill.

Kan avl gi økt kapasitet til å produsere og lagre EPA og DHA?

Leaver m.fl., (2011) har vist at EPA og DHA nivået i laksemuskel har en arvegrad på $h^2=0.77$, noe som tilsier at 77% av variasjonen i denne egenskapen i populasjonen kan tilskrives genetisk variasjon. Første generasjons avkom av laks selektert for høyt eller lavt genuttrykk av $\Delta 6$ desaturase (arvegrad $h^2=0.10$) viste ulikt nivå av EPA og DHA i helkropp ved 50 gram (Ruyter m.fl., 2015, Østbye m.fl., 2012, Berge m.fl., 2012). Etter smoltifisering hadde familiene selektert for høyt uttrykk av $\Delta 6$ desaturase høyere syntesekapasitet av EPA og DHA sammenliknet med familiene selektert for lavt genuttrykk (Østbye m.fl., 2015). I fôringsforsøk med 3 Høy- og 3 Lav-desaturase-familier der fisken vokste fra 90 til 500 gram, undersøkte vi

effekt av både genetisk bakgrunn og nivå av fiskeolje vs rapsolje i fôr. Hverken nivå av fiskeolje eller høy/lav genetisk kapasitet for å produsere langkjedede omega-3 hadde effekt på tilvekst, men begge faktorene gav signifikante forskjeller på deponering av EPA og DHA i fisk. Fisk med høy genetisk kapasitet for å produsere lange omega-3, deponerte DHA i større grad enn fisk med lav kapasitet, og deponeringsgraden var høyere jo mindre fiskeolje i fôret. Fisk med lav genetisk kapasitet for å produsere omega-3 hadde også mer fett i lever og høyere nivå av f.eks. ASAT og ALAT enn fisk med høyt genetisk potensiale, særlig når de fikk fôr med lavt nivå av fiskeolje (0,9% og 1,7 % EPA+DHA i fôret), sammenlignet med laks som fikk høyere nivå av fiskeolje (3,9% og 5,4% EPA+DHA i fôret). Dataene tyder på at omega-3 fettsyremetabolismen er bestemt av et kompleks sett av genetiske parametere. Resultatene fra forsøket viste også at ved seleksjon for en egenskap, følger flere andre egenskaper med. Seleksjon for genuttrykk av $\Delta 6$ desaturase i denne studien hadde betydning for fettfordeling i fiskekroppen i tillegg til flere parametere relatert til fiskehelse inkludert overlevelse i sjø (Berge m.fl., 2015). Dataene tyder på et potensiale for genetisk seleksjon for økt kapasitet til EPA og DHA syntese.

Genmodifisering av fisk

Det er utført genetisk modifisering på en rekke fiskearter, noe som har ført til ca 400 nye kombinasjoner av fiskeart og egenskaper. De fleste modifikasjonene er utført på arter som brukes til matfisk – slik som laks, tilapia, og karpe. Transgen fisk kan ha mange positive egenskaper for akvakulturnæringen; økt vekst, sykdomsresistens, kuldetoleranse, sterilitet og endret metabolisme for å endre krav til fiskebaserte dietter. Vi vet imidlertid lite om de miljø- og helsemessige konsekvensene av genetisk modifiserte organismer.

Aqua Bounty Technologies har produsert en transgen laks modifisert med veksthormon fra Chinook salmon. Resultatet er en laks med endret vekstmønster. Veksten er kontinuerlig istedenfor normalt sesongavhengig. Produksjonstiden av den transgene laksen er rapportert å være redusert til 18 måneder istedenfor normalt 3 år. Det skal nevnes at produksjonstiden er avhengig av rekke faktorer som familiebakgrunn, fôr, slaktevekt, produksjonsforhold og temperatur. I dag er produksjonstiden for norsk oppdrettslaks i sjø fra 12 til 19 måneder. I 2015 godkjente amerikanske matvaremyndigheter (FDA) produksjon, salg og konsum av den genmodifiserte laksen fra Aquabounty (www.fda.gov).

Nibe croaker er en marin fisk med begrenset evne til produksjon av DHA. Kabeya m.fl. (ISFNF 2012) har produsert en transgen nibe croaker med et gen fra masu salmon som koder for et

viktig enzym (elongase) i syntesen av langkjedede fettsyrer. Den transgene nibe croaker viste redusert EPA nivå, men økt DPA produksjon (22:5n-3), som dannes ved kjedeforlengelse av EPA. Det er ingen informasjon om endring i DHA nivå i fisken. Det er vist at EPA og DHA nivå kan økes 1.2-1.4 ganger i transgen sebrafisk ved å overuttrykke gener involvert i syntesen av langkjedede fettsyrer; desaturaser og elongaser (Alimuddin m. fl., 2005, 2007, 2008).

Fisk og pattedyr har ikke enzymer som gjør det mulig å omdanne omega-6 til omega-3 fettsyrer. Rundormen *c. eleganse* har imidlertid et gen, *fat-1*, som innehar denne egenskapen (Kang m.fl. 2004). Kang m.fl. (2004) har vist at transgene mus med dette genet fra *c. eleganse* kan tilføre dobbelbindinger til en umettet fettsyre og omdanne omega-6 til omega-3 fettsyrer. Resultatet er en nedgang i omega-6 fettsyrer og økning i omega-3 fettsyrer. Om denne teknologien kan benyttes også for matproduksjonsdyr vil det være mulig å anrike animalske produkter med n-3 fettsyrer.

Genetisk modifisering gjør det mulig å forbedre og tilføre nye egenskaper i fisk, noe som kan være av stor verdi for akvakulturnæringen. Laksen kan for eksempel endres til å opprettholde høy kapasitet til EPA/DHA syntese etter overgang fra ferskvann til sjøvann, eller tilføres genet for enzymet som kan omdanne omega-6 til omega-3 fettsyrer. Det er foreløpig begrenset antall studier med transgen laks eller ørret, og mye usikkerhet rundt hva slags konsekvenser genetisk modifisering kan ha for både miljø og fiskehelse. Bioteknologirådet arrangerte i november 2015 et åpent møte om genmodifisert laks hvor NIFES deltok, og disse temaene ble diskutert (<http://www.bioteknologiradet.no/2016/01/ope-mote-i-bergen-genmodifisert-laks/>).

Oppsummert vet vi at det er stort potensial til å optimalisere retensjon av EPA og DHA i laks, og at laks og ørret kan være netto produsenter av EPA og spesielt DHA når forholdene og dietten optimaliseres for det formålet. Det trengs allikevel kunnskap om hva de optimale forholdene er, og for å utnytte begrensede mengder EPA og DHA på en best mulig måte er det nødvendig med studier som ser på ressursutnyttelse gjennom hele produksjonssyklusen. Hvordan en kan utnytte sesongmessige variasjoner og ulike stadier i livssyklus, samt optimalisere fôret og fiskens genetikk for å få en maksimal retensjon av EPA og DHA.

Referanser:

- Aas, G.H., Bjerkgeng, B., Storebakken, T., Ruyter, B., 1999. Blood appearance, metabolic transformation and plasma transport proteins of ¹⁴C-astaxanthin in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish Physiol. Biochem.* 21, 325-334.
- Adam, A. C., Lie, K. K., Jakt, L. M., Moren, M., Skjærven, K. H. (2015) Dietary high arachidonic acid level affects the DNA methylation pattern in zebrafish. EPICONCEPT Epigenetics and Periconception Environment Cost Action FA1201, Kreta, Hellas
- Ahmed MA., Abd EL Samad AA 2013 Benefits of omega-3 fatty acid against bone changes in salt-loaded rats: possible role of kidney. *Physiological reports* 1:5
- Aksnes, A., Gjerde, B. & Roald, S. O. (1986). Biological, Chemical and Organoleptic Changes during Maturation of Farmed Atlantic Salmon, *Salmo-Salar*. *Aquaculture*, 53 (1): 7-20.
- Aksnes, A. (1995). Growth, feed efficiency and slaughter quality of salmon, *Salmo salar* L., given feeds with different ratios of carbohydrate and protein. *Aquaculture Nutrition*, 1 (4): 241-248.
- Albrektsen, S., Lock, E.J., Bæverfjord, G., Pedersen, M.E., Krasnov, A., Takle, H., Veiseth-Kent, E., Ørnstrud, R., Waagbø, R., Ytteborg E. Utnyttelse av P fra sildeavskjær som alternativ P kilde i fôr til laksesmolt (*Salmo salar* L.) Rapport 08/2014. Norwegian report for The Norwegian Seafood Research Fund- FHF
- Alne, H., Thomassen, M. S., Takle, H., Terjesen, B. F., Grammes, F., Oehme, M., & Rørvik, K. A. (2009). Increased survival by feeding tetradecylthioacetic acid during a natural outbreak of heart and skeletal muscle inflammation in S0 Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of fish diseases*, 32(11), 953-961.
- Alne, H., Oehme, M., Thomassen, M., Terjesen, B. & Rørvik, K. A. (2011). Reduced growth, condition factor and body energy levels in Atlantic salmon *Salmo salar* L. during their first spring in the sea. *Aquaculture Research*, 42 (2): 248-259.
- Alimuddin, Kiron, V., Satoh, S., Takeuchi, T., & Yoshizaki, G. (2008) Cloning and over-expression of a masu salmon (*Oncorhynchus masou*) fatty acid elongase-like gene in zebrafish. *Aquaculture*, 282(1-4): 13-18.
- Alimuddin, Yoshizaki, G., Kiron, V., Satoh, S., & Takeuchi, T. (2005) Enhancement of EPA and DHA biosynthesis by over-expression of masu salmon delta6-desaturase-like gene in zebrafish. *Transgenic Res.*, 14(2): 159-165.
- Alimuddin, Yoshizaki, G., Kiron, V., Satoh, S., & Takeuchi, T. (2007) Expression of masu salmon delta5-desaturase-like gene elevated EPA and DHA biosynthesis in zebrafish. *Mar.Biotechnol.(NY)*, 9(1): 92-100.
- Alvheim, A. R., Torstensen, B. E., Lin, Y. H., Lillefosse, H. H., Lock, E. J., Madsen, L., Hibbeln, J. R., & Malde, M. K. (2013) Dietary linoleic acid elevates endogenous 2-arachidonoylglycerol and anandamide in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and mice, and induces weight gain and inflammation in mice. *Br.J.Nutr.*, 109(8): 1508-1517.
- Alvheim, A. R., Malde, M. K., Osei-Hyiaman, D., Lin, Y. H., Pawlosky, R. J., Madsen, L., Kristiansen, K., Froyland, L. and Hibbeln, J. R. (2012). Dietary Linoleic Acid Elevates Endogenous 2-AG and Anandamide and Induces Obesity. *Obesity* 20, 1984-1994.
- Amlund, H., Andreassen, L. & Torstensen, B.E. (2012) Dietary methylmercury and vegetable oil affects brain lipid composition in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) *Food Chem. Tox.* 50, 518-525.
- Aoi, W., Y. Naito, Y. Takanami, T. Ishii, Y. Kawai, S. Akagiri, Y. Kato, T. Osawa, and T. Yoshikawa. 2008. Astaxanthin improves muscle lipid metabolism in exercise via inhibitory effect of oxidative CPT I modification. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 366:892-897.
- Arnemo, M., Kavaliauskis, A., Mira, M.B., Berge, G.M., Ruyter, B. & Gjøen, T. (2016) Effects of dietary n-3 fatty acids on Toll-like receptor activation in macrophages from Atlantic salmon (*Salmo salar*). Manuscript submitted to *Aquaculture*.

- Balfry, S. K., Oakes, J., Rowshandeli, M., Deacon, G., Skura, B. J., & Higgs, D. A. (2006) Efficacy of an equal blend of canola oil and poultry fat as an alternate dietary lipid source for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seawater. II: effects on haematology and immunocompetence. *Aquaculture Research*, 37(2): 192-199.
- Bates, J. M., Mittge, E., Kuhlman, J., Baden, K. N., Cheesman, S. E., & Guillemin, K. (2006) Distinct signals from the microbiota promote different aspects of zebrafish gut differentiation. *Developmental Biology*, 297(2): 374-386.
- Barros, M.P., S.C. Poppe, and T.P. Souza-Junior. 2011. Putative benefits of microalgal astaxanthin on exercise and human health. *Revista Brasileira De Farmacognosia-Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 21:283-289.
- Bektas, S. and O. Ayik (2010). "Alterations in Erythrocyte Osmotic Fragility and Erythrocyte Membrane Fatty Acid Profile of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Experimentally Infected with *Aeromonas salmonicida*." *Journal of Animal and Veterinary Advances* 9(19): 2472-2476.
- Bell, J. G., I. Ashton, m. fl. (1996). "Dietary lipid affects phospholipid fatty acid compositions, eicosanoid production and immune function in Atlantic salmon (*Salmo salar*)." *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 54(3): 173-182.
- Bell, J. G., J. R. Sargent, m. fl. (1992). "Effects of Increasing Dietary Linoleic-Acid on Phospholipid Fatty-Acid Composition and Eicosanoid Production in Leukocytes and Gill Cells of Atlantic Salmon (*Salmo-Salar*)." *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 45(3): 197-206.
- Bell, J. G., Henderson, R. J., Tocher, D. R., McGhee, F., Dick, J. R., Porter, A., Smullen, R. P., & Sargent, J. R. (2002) Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. *Journal of Nutrition*, 132(2): 222-230.
- Bell, J., Henderson, R., Tocher, D. & Sargent, J. (2004) Replacement of dietary fish oil with increasing levels of linseed oil: Modification of flesh fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using a fish oil finishing diet. *Lipids*, 39, 223-232.
- Bell, J.G., Henderson, R.J., Tocher, D.R., McGhee, F., Dick, J.R., Porter, A., Smullen, R.P. & Sargent, J.R. (2002) Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. *J Nutr*, 132, 220-230.
- Bell, J. G., Dick, J. R., Mc Vicar, A. H., Sargent, J. R. and Thompson, K. D. (1993). Dietary sunflower, linseed and fish oils affect phospholipid fatty acid composition, development of cardiac lesions, phospholipase activity and eicosanoid production in Atlantic salmon. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 49, 665-673.
- Bell, J. G., McEvoy, J., Tocher, D. R., McGhee, F., Campbell, P. J., & Sargent, J. R. (2001) Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. *Journal of Nutrition*, 131(5): 1535-1543.
- Bell, J. G., McGhee, F., Campbell, P. J., & Sargent, J. R. (2003) Rapeseed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil "wash out". *Aquaculture*, 218(1-4): 515-528.
- Bell, J. G., Tocher, D. R., Farndale, B. M., Cox, D. I., McKinney, R. W., & Sargent, J. R. (1997) The effect of dietary lipid on polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation. *Lipids*, 32(5): 515-525.
- Bell, J. G., Tocher, D. R., Henderson, R. J., Dick, J. R., & Crampton, V. O. (2003) Altered fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing linseed and rapeseed oils can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diet. *Journal of Nutrition*, 133(9): 2793-2801.
- Bell, J.G., McVicar, A.H., Park, M.T. & Sargent, J.R. (1991) High Dietary Linoleic Acid Affects the Fatty Acid Compositions of Individual Phospholipids from Tissues of Atlantic Salmon (*Salmo salar*): Association with Stress Susceptibility and Cardiac Lesion. *J Nutr*, 121, 1163-1172.

- Bjerkeng, B., Hatlen, B., Wathne, E. 1999. Deposition of astaxanthin in fillets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with herring, capelin, sandeel or Peruvian high PUFA oils. *Aquaculture* 180, 307-319.
- Bjerkeng, B., Refstie, S., Fjalestad, K. T., Storebakken, T., Rødbotten, M., Roem, A.J., 1997. Quality parameters of the flesh of Atlantic salmon (*Salmo salar*) as affected by dietary fat content and full-fat soybean meal as a partial substitute for fish meal in the diet. *Aquaculture* 157, 297-309.
- Bjerkås, E., Breck, O. & Waagbø, R. 2006. The role of nutrition in cataract formation in farmed fish. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 1 No 033, 1-16.
- Bonet, M.L., J. Ribot, and A. Palou. 2012. Lipid metabolism in mammalian tissues and its control by retinoic acid. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 1821:177-189.
- Borel, P., Grolier, M., Armand, M., Partier, a., Lafont, H., Lairon, D., Azais-Bresco, V. 1996. Carotenoids in biological emulsions: solubility, surface-to-core distribution, and release from lipid droplets. *J. Lipid Res.* 37, 250-261.
- Bektas, S. & Ayik, O. 2010. Alterations in Erythrocyte Osmotic Fragility and Erythrocyte Membrane Fatty Acid Profile of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Experimentally Infected with *Aeromonas salmonicida*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(19): 2472-2476.
- Brandsen, M.P., Carter, C.G. & Nichols, P.D. (2003a) Replacement of fish oil with sunflower oil in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): effect on growth performance, tissue fatty acid composition and disease resistance. *Comp Biochem Physiol B* 135, 611-625.
- Belzung, F., Raclot, T., & Groscolas, R. (1993) Fish-Oil N-3 Fatty-Acids Selectively Limit the Hypertrophy of Abdominal Fat Depots in Growing Rats Fed High-Fat Diets. *American Journal of Physiology*, 264(6): R1111-R1118.
- Benhaïm, D., Bégout, M.L., Péan, S., Manca, M., Prunet, P. and Chatain, B. (2013) Impact of a plant-based diet on behavioural and physiological traits in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquat. Living Resour.*, 26 (2), 121-131.
- Bendiksen, E. A., Berg, O. K., Jobling, M., Arnesen, A. M., & Masoval, K. (2003) Digestibility, growth and nutrient utilisation of Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.) in relation to temperature, feed fat content and oil source. *Aquaculture*, 224(1-4): 283-299.
- Berge, G.M.; Østbye, T.-K., K; Kjær, M. A.; Sonesson, A.K.; Mørkøre, T.; Ruyter, B. Betydning av genetisk bakgrunn og ulike nivå av omega-3-fettsyrer i før i tidlige livsfaser for fiskehelse, fettysresammensetning og muskelkvalitet ved slaktestørrelse *FHF-prosjekt 900770 – delrapport 2*. (Research report, 2015).
- Berge, G., Østbye, T.-K., Kjær, M., & m. fl. (2012) Atlantic salmon, a net producer of very long chain (VLC) n-3 fatty acids? *ISFNF*.
- Bernardi, J. R., Ferreira, C. F., Senter, G., Krolow, R., de Aguiar, B. W., Portella, A. K., Kauer-Sant'Anna, M., Kapczinski, F., Dalmaz, C., Goldani, M. Z., & Silveira, P. P. (2013) Early Life Stress Interacts with the Diet Deficiency of Omega-3 Fatty Acids during the Life Course Increasing the Metabolic Vulnerability in Adult Rats. *Plos One*, 8(4).
- Betancor, M.B., Sprague M., Sayanova, O. Usher, S. Campbell P.J., Napier J.A., Caballero M.J., Tocher D.R. 2015. Evaluation of a high-EPA oil from transgenic *Camelina sativa* in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Effects on tissue fatty acid composition, histology and gene expression. *Aquaculture*, Volume 444, 1 July 2015, Pages 1-12
- Bowden, T. J., Smail, D. A., & Ellis, A. E. (2002). Development of a reproducible infectious pancreatic necrosis virus challenge model for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 25(9), 555-563.

- Brodtkorb B. T., Rosenlund G. & Lie Ø. (1997) Effects of 20:5n-3 and 22:6n-3 on tissue lipid composition in juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar*, - with emphasis on brain and eye. *Aquaculture Nutrition* 3, 175-187.
- Brown, C.L. & Nunez, J.M. (1998) Disorders of development In *Fish Diseases and Disorders* (Leatherland, J.F. & Woo, P.T.K. eds.), Vol. Volume 2: Non-infectious disorders, pp. 1-17. CABI Publishing, Oxon.
- Bæverfjord, G., Fjellidal P.G., Albrektsen S...& Waagbø R. (2012). Mineral nutrition and the impact on bone development and skeletal deformities – a review. *Nofima Report 37/2012*, 91pp.
- Caballero, M. J., Izquierdo, M. S., Kjorsvik, E., Montero, D., Socorro, J., Fernandez, A. J., & Rosenlund, G. (2003) Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources. *Aquaculture*, 225(1-4): 325-340.
- Caballero, M. J., Obach, A., Rosenlund, G., Montero, D., Gisvold, M., & Izquierdo, M. S. (2002) Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 214(1-4): 253-271.
- Cahu, C., Infante, J.Z. & Takeuchi, T. (2003) Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. *Aquaculture* 227, 245-258.
- Cerda, J., Zanuy, S., Carrillo, M., Ramos, J., & Serrano, R. (1995) Short-Term and Long-Term Dietary-Effects on Female Sea Bass (*Dicentrarchus-Labrax*) - Seasonal-Changes in Plasma Profiles of Lipids and Sex Steroids in Relation to Reproduction. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Pharmacology Toxicology & Endocrinology*, 111(1): 83-91.
- Chimsung N, Tantikitti C, Milley JE, Verlhac-Trichet V and Lall SP (2014) Effects of various dietary factors on astaxanthin absorption in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquacult Res* 45: 1611-1620
- Christiansen R., Waagbø R. and Torrissen O.J. (1993) Effects of polyunsaturated fatty acids and vitamin E on flesh pigmentation in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Proceedings from Fish Nutrition in Practice*, pp. 339-343. Biarritz (France), June 1991.
- Christie, M.R., Marine, M.L., Fox, S.E., French, R.A., Blouin, M.S., 2016. A single generation of domestication heritably alters the expression of hundreds of genes. *Nat Commun* 7, 10676.
- Codabaccus, M. B., Bridle, A. R., Nichols, P. D. & Carter, C. G. (2011). Effect of feeding Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) a diet enriched with stearidonic acid from parr to smolt on growth and n-3 long-chain PUFA biosynthesis. *British Journal of Nutrition*, 105 (12): 1772-1782.
- Codabaccus BM, Carter CG, Bridle AR *et al.* (2012) The “n-3 LC-PUFA sparing effect” of modified dietary n-3 LC-PUFA content and DHA to EPA ratio in Atlantic salmon smolt. *Aquaculture* 356–357, 135-140.
- Copeman, L. A., Parrish, C. C., Brown, J. A., & Harel, M. (2002) Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment. *Aquaculture*, 210(1-4): 285-304.
- Costas B, Couto A, Azeredo R, Machado M, Krogdahl A and Oliva-Teles A (2014) Gilthead seabream (*Sparus aurata*) immune responses are modulated after feeding with purified antinutrients. *Fish Shellfish Immunol* 41: 70-79
- Couto A, Kortner TM, Penn M, Bakke AM, Krogdahl A and Oliva-Teles A (2014) Effects of dietary soy saponins and phytosterols on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) during the on-growing period. *Animal Feed Science and Technology* 198: 203-214
- Couto A, Kortner TM, Penn M, Bakke AM, Krogdahl A and Oliva-Teles A (2015) Dietary saponins and phytosterols do not affect growth, intestinal morphology and immune response of on-growing European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquacult Nutr* 21: 970-982

- Couto A, Kortner TM, Penn M, Ostby G, Bakke AM, Krogdahl A and Oliva-Teles A (2015) Saponins and phytosterols in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles: effects on growth, intestinal morphology and physiology. *Aquacult Nutr* 21: 180-193
- de Wit, N. J., Bosch-Vermeulen, H., de Groot, P. J., Hooiveld, G. J., Bromhaar, M. M., Jansen, J., Muller, M., & van der Meer, R. (2008) The role of the small intestine in the development of dietary fat-induced obesity and insulin resistance in C57BL/6J mice. *BMC Med.Genomics*, 1: 14.
- Dalum, A.S. Falk, K., Hordvik, I., Rosenlund, G., Torstensen B.E., Koppang, E.O. (2015) Coronary changes in the Atlantic salmon (*Salmo salar* L): Characterization and impact of dietary fatty acid compositions. *Journal of Fish Diseases*. doi: 10.1111/jfd.12321.
- Derome, N. (2015). The biogeography of the atlantic salmon (*Salmo salar*) gut microbiome. *ISME J*.
- Desai, A. R., Links, M. G., Collins, S. A., Mansfield, G. S., Drew, M. D., Van Kessel, A. G., & Hill, J. E. (2012) Effects of plant-based diets on the distal gut microbiome of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 350: 134-142.
- Dicostanzo, G., Duportail, G., Florentz, A., & Leray, C. (1983) The Brush-Border Membrane of Trout Intestine - Influence of Its Lipid-Composition on Ion Permeability, Enzyme-Activity and Membrane Fluidity. *Molecular Physiology*, 4(5-6): 279-290.
- Drucker, D. J. (2007) Unraveling the complexities of gut endocrinology. *Nat.Clin.Pract.Endocrinol.Metab*, 3(4): 317.
- Duston, J., & Saunders, R. L. (1995). Advancing smolting to autumn in age 0+ Atlantic salmon by photoperiod, and long-term performance in sea water. *Aquaculture*, 135(4), 295-309.
- Dyall SC. Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: a review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA. *Front Aging Neurosci*. 2015 Apr 21;7:52. doi: 10.3389/fnagi.2015.00052. eCollection 2015. Review.
- Ellis, T., Yildiz, H.Y., Lo'pez-Olmeda, J., Spedicato, M.T., Tort, L., Øverli, Ø. & Martins, C.I.M. (2012) Cortisol and finfish welfare. *Fish Physiol Biochem*, DOI 10.1007/s10695-011-9568-y.
- Einen, O., Mørkøre, T., Rørå, A. M. B. & Thomassen, M. S. (1999). Feed ration prior to slaughter - a potential tool for managing product quality of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 178 (1-2): 149-169.
- Einen, O., Roem, A., 1997. Dietary protein/energy ratios for Atlantic salmon in relation to fish size: growth, feed utilization and slaughter quality. *Aquacult. Nutr*. 3, 115-126.
- Elliott, R. 2005. Mechanisms of genomic and non-genomic actions of carotenoids. *Biochimica et Biophysica Acta* 170, 147-154
- Emery JA, Smullen RP & Turchini GM (2014) Tallow in Atlantic salmon feed. *Aquaculture* 422–423, 98-108.
- Emery JA, Norambuena F, Trushenski J, Turchini G.M.. 2016. Uncoupling EPA and DHA in Fish Nutrition: Dietary Demand is Limited in Atlantic Salmon and Effectively Met by DHA Alone. *Lipids*. 2016 Apr;51(4):399-412. doi: 10.1007/s11745-016-4136-y. Epub 2016 Mar 11.
- Erdal, J. I., Evensen, O., Kaurstad, O. K., Lillehaug, A., Solbakken, R., & Thorud, K. (1991) Relationship Between Diet and Immune-Response in Atlantic Salmon (*Salmo-Salar* L) After Feeding Various Levels of Ascorbic-Acid and Omega-3-Fatty-Acids. *Aquaculture*, 98(4): 363-379.
- Fatema M, Chen Z and Wei G (2015) β -sitosterol reduce cholesterol levels in high cholesterol diet fed zebrafish. *International Journal of Natural and Social Sciences* 2 (2015) 53-65 2: 53-65
- Fjellidal, P.G., Nordgarden, U, Wargelius, A., Taranger, G.L., Waagbø, R. & Olsen, R.E. (2010) Effects of vegetable feed ingredients on bone health in Atlantic salmon. *J. Appl. Ichthyol*. 26, 327-333.

- Flachs, P., Horakova, O., Brauner, P., Rossmeisl, M., Pecina, P., Franssen-van Hal, N., Ruzickova, J., Sponarova, J., Drahota, Z., Vlcek, C., Keijer, J., Houstek, J., & Kopecky, J. (2005) Polyunsaturated fatty acids of marine origin upregulate mitochondrial biogenesis and induce beta-oxidation in white fat. *Diabetologia*, 48(11): 2365-2375.
- Frayn, K. N. (2002) Adipose tissue as a buffer for daily lipid flux. *Diabetologia*, 45(9): 1201-1210.
- Furr, H. C., Clark, R.M., 1997. Intestinal absorption and tissue distribution of carotenoids. *Nutr. Biochem.* 8, 364-377.
- Gammone, M.A., G. Riccioni, and N. D'Orazio. 2015. Carotenoids: potential allies of cardiovascular health? *Food & Nutrition Research*. 59.
- Ghanbari, M., Kneifel, W. & Domig, K. J. (2015). A new view of the fish gut microbiome: Advances from next-generation sequencing. *Aquaculture* 448, 464-475.
- Giri, S.S., Graham, J., Noor K.A. Hamid, Donald, J.A. & Turchini, G.M. (2016) Dietary micronutrients and in vivo n – 3 LC-PUFA biosynthesis in Atlantic salmon *Aquaculture*, 452, 416-425.
- Gjoen, T., E. J. Kleveland, m. fl. (2007). "Effects of dietary thia fatty acids on lipid composition, morphology and macrophage function of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) kidney." *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology* 148(1): 103-111.
- Gjoen, T., Obach, A., Rosjo, C., Helland, B. G., Rosenlund, G., Hvattum, E., & Ruyter, B. (2004) Effect of dietary lipids on macrophage function, stress susceptibility and disease esistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 30(2): 149-161.
- Glencross, B. D. (2009) Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Reviews in Aquaculture*, 1(2): 71-124.
- Glencross, B. & Turchini, G. M. (2010). Chapter 12. Fish Oil Replacement in Start, Grow-Out and Finishing Feeds for Farmed Aquatic Animals. I: Turchini, G. M., Ng, W. K. & Tocher, D. R. (red.) *Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feedss*. 373-404. CRC Publishing Ltd.
- Glencross BD, Smith DM, Thomas MR *et al.* (2002) The effect of dietary n-3 and n-6 fatty acid balance on the growth of the prawn *Penaeus monodon*. *Aqua Nutr* 8, 43-51.
- Glencross BD, Tocher DR, Matthew C *et al.* (2014) Interactions between dietary docosahexaenoic acid and other long-chain polyunsaturated fatty acids on performance and fatty acid retention in post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Physiol Biochem* 40, 1213-1227.
- Gil-Martens, L.G. (2012) Is inflammation a risk factor for spinal deformities in farmed Atlantic salmon? Ph D thesis University of Bergen, Norge.
- Gil-Martens, L., Lock, E. J., Fjellidal, P. G., Wargelius, A., Araujo, P., Torstensen, B. E., Witten, P. E., Hansen, T., Waagbø, R. & Ørnsrud, R. (2010) Dietary fatty acids and inflammation in the vertebral column of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts: a possible link to spinal deformities. *J. Fish Dis.*, 33, 957–972.
- Goralczyk, V. Oberhauser, J. von Lintig, and A. Wyss. 2007. CMO1 deficiency abolishes vitamin A production from beta-carotene and alters lipid metabolism in mice. *Journal of Biological Chemistry*. 282:9.
- Grisdale-Helland, B., Ruyter, B., Rosenlund, G., Obach, A., Helland, S. J., Sandberg, M. G., Standal, H. and Roesjoe, C. (2002). Influence of high contents of dietary soybean oil on growth, feed utilization, tissue fatty acid composition, heart histology and standard oxygen consumption of Atlantic salmon (*Salmo salar*) raised at two temperatures. *Aquaculture* 207, 311-329.
- Grisdale-Helland, B., Lemme, A., & Helland, S. J. (2013). Threonine requirement for maintenance and efficiency of utilization for threonine accretion in Atlantic salmon smolts determined using increasing ration levels. *Aquaculture*, 372, 158-166.

- Gu M, Gu JN, Penn M, Bakke AM, Lein I and Krogdahl A (2015) Effects of diet supplementation of soya-saponins, isoflavones and phytosterols on Atlantic salmon (*Salmo salar*, L) fry fed from start-feeding. *Aquacult Nutr* 21: 604-613
- Guderley, H. & Gawlicka, A. (1992). Qualitative Modification of Muscle Metabolic Organization with Thermal-Acclimation of Rainbow-Trout, *Oncorhynchus-Mykiss*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 10 (2): 123-132.
- Guillou, A., G. Choubert, T. Storebakken, J. Delanoue, and S. Kaushik. 1989. Bioconversion pathway of astaxanthin into retinol-2 in mature rainbow trout (*Salmo Gairdneri rich*). *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*. 94:481-485.
- Hainault, I., Carlotti, M., Hajduch, E., Guichard, C., & Lavau, M. (1993) Fish-Oil in A High Lard Diet Prevents Obesity, Hyperlipemia, and Adipocyte Insulin-Resistance in Rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 683: 98-101.
- Hamilton M.L., Haslam R.P., Napier J.A., Sayanova O. 2014. Metabolic engineering of *Phaeodactylum tricornutum* for the enhanced accumulation of omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids. *Metabolic Engineering*, Volume 22, March 2014, Pages 3-9
- Harris WS: Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: A case for omega-3 index as a new risk factor. *Pharmacological Research* 2007, 55(3):217-223.
- Hatlen, B., Berge, G. M., Odom, J. M., Mundheim, H. & Ruyter, B. (2012a). Growth performance, feed utilisation and fatty acid deposition in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fed graded levels of high-lipid/high-EPA Yarrowia lipolytica biomass. *Aquaculture*, 364: 39-47.
- Hatlen, B., Oaland, Ø., Tvenning, L., Breck, O., Jakobsen, J. V. & Skaret, J. (2012b). Growth performance, feed utilization and product quality in slaughter size Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed a diet with porcine blood meal, poultry oil and salmon oil. *Aquaculture Nutrition*: in press.
- Hemre, G. I. & Sandnes, K. (1999). Effect of dietary lipid level on muscle composition in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquaculture Nutrition*, 5 (1): 9-16.
- Hemre, G. I. & Sandnes, K. (2008). Seasonal adjusted diets to Atlantic salmon (*Salmo salar*): Evaluations of a novel feed based on heat-coagulated fish mince, fed throughout 1 year in sea: Feed utilisation, retention of nutrients and health parameters. *Aquaculture*, 274 (1): 166-174.
- Helland S, Denstadli V, Witten PE, Hjelde K, Storebakken T, Skrede A, Asgard T, Baeverfjord G: (2006) Hyperdense vertebrae and mineral content in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets with graded levels of phytic acid. *Aquaculture*, 261:603-614.
- Henderson, R. J., M. F. Tatner, m. fl. (1992). "Antibody-Production in Relation to Lipid-Composition in Rainbow-Trout Fed Diets of Different (N-3) Polyunsaturated Fatty-Acid Content." *Aquaculture* 100(1-3): 232-232.
- Hessel, S., A. Eichinger, A. Isken, J. Amengual, S. Hunzelmann, U. Hoeller, V. Elste, W. Hunziker, R.
- Holman RT (1998) The slow discovery of the importance of ω 3 essential fatty acids in human health. *J Nutr* 128, 427S-433S.
- Hillestad, M., Johnsen, F., Austreng, E. & Asgard, T. (1998). Long-term effects of dietary fat level and feeding rate on growth, feed utilization and carcass quality of Atlantic salmon. *Aquaculture Nutrition*, 4 (2): 89-97.
- Holen, E., He, J., Espe, M., Chen, L., Araujo, P. (2015) Combining eicosapentaenoic acid, decosahexaenoic acid and arachidonic acid, using a fully crossed design, affect gene expression and eicosanoid secretion in salmon head kidney cells in vitro. *Fish and Shellfish Immunology* 45: 1-9.
- Horton, J. D., Goldstein, J. L. & Brown, M. S. (2002) SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J. Clin. Invest.*, 109, 1125-1131.

- Hovda, M. B., Fontanillas, R., McGurk, C., Obach, A., & Rosnes, J. T. (2012) Seasonal variations in the intestinal microbiota of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Research*, 43(1): 154-159.
- Hovda, M. B., Lunestad, B. T., Fontanillas, R., & Rosnes, J. T. (2007) Molecular characterisation of the intestinal microbiota of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 272(1-4): 581-588.
- Ibarra-Zatarain, Z., Morais, S., Bonacic, K., Campoverde, C. and Duncan, N. (2015) Dietary fatty acid composition significantly influenced the proactive-reactive behaviour of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) post-larvae. *Applied Animal Behaviour Science*, 171, 233-240.
- Ingerslev, H. C., Jorgensen, L. v. G., Strube, M. L., Larsen, N., Dalsgaard, I., Boye, M. & Madsen, L. (2014a). The development of the gut microbiota in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is affected by first feeding and diet type. *Aquaculture* 424, 24-34.
- Ingerslev, H.-C., Strube, M. L., Jorgensen, L. v. G., Dalsgaard, I., Boye, M. & Madsen, L. (2014b). Diet type dictates the gut microbiota and the immune response against *Yersinia ruckeri* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology* 40, 624-633.
- Izquierdo, M.S., Fernández-Palacios, H. & Tacon, A.G.J. (2001) Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197, 25-42.
- Jia, Y., J.-Y. Kim, H.-J. Jun, S.-J. Kim, J.-H. Lee, M.H. Hoang, K.-Y. Hwang, S.-J. Um, H.I. Chang, and S.-J. Lee. 2012. The natural carotenoid astaxanthin, a PPAR-alpha agonist and PPAR-gamma antagonist, reduces hepatic lipid accumulation by rewiring the transcriptome in lipid-loaded hepatocytes. *Molecular Nutrition & Food Research*. 56:878-888.
- Jordal, A. E. O., Lie, O., & Torstensen, B. E. (2007) Complete replacement of dietary fish oil with a vegetable oil blend affect liver lipid and plasma lipoprotein levels in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Nutrition*, 13(2): 114-130.
- Johnsen, R.I., Grahl-Nielsen, O. & Roem, A. (2006) Relative absorption of fatty acids by Atlantic salmon *Salmo salar* from different diets, as evaluated by multivariate statistics. *Aqua Nutr*, 6, 255-261.
- Jutfelt, F., Olsen, R. E., Bjornsson, B. T., & Sundell, K. (2007) Parr-smolt transformation and dietary vegetable lipids affect intestinal nutrient uptake, barrier function and plasma cortisol levels in Atlantic salmon. *Aquaculture*, 273(2-3): 298-311.
- Kabeya, N., Takeuchi, Y., & Yamamoto, Y. e. a. (2012) Modification of fatty acid metabolic pathway by transgenesis in the nibe croaker (*Nibea mitsukurii*). *ISFNF*.
- Kadri, S., Thorpe, J. E., & Metcalfe, N. B. (1997). Anorexia in one-sea-winter Atlantic salmon (*Salmo solar*) during summer, associated with sexual maturation. *Aquaculture*, 151(1), 405-409.
- Karupaiah T & Sundram K (2007) Effects of stereospecific positioning of fatty acids in triacylglycerol structures in native and randomized fats: a review of their nutritional implications. *Nutrition & Metabolism* 4, 16.
- Kang, J. X., Wang, J. D., Wu, L., & Kang, Z. B. (2004) Transgenic mice - Fat-1 mice convert n-6 to n-3 fatty acids. *Nature*, 427(6974): 504.
- Kim, D. H., Brunt, J., & Austin, B. (2007). Microbial diversity of intestinal contents and mucus in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*). *J.Appl.Microbiol.*, 102(6): 1654-1664.
- Kim, Y.K., M.V. Zuccaro, B.K. Costabile, R. Rodas, and L. Quadro. 2015. Tissue- and sex-specific effects of beta-carotene 15,15 ' oxygenase (BCO1) on retinoid and lipid metabolism in adult and developing mice. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 572:11-18.
- Kiron, V., A. Gunji, m. fl. (1993). "Dietary Nutrient Dependent Variations on Natural-Killer Activity of the Leukocytes of Rainbow-Trout." *Fish Pathology* 28(2): 71-76.

- Kiron, V., Fukuda, H., Takeuchi, T., & Watanabe, T. (1995) Essential Fatty-Acid Nutrition and Defense-Mechanisms in Rainbow-Trout *Oncorhynchus-Mykiss*. *Comparative Biochemistry and Physiology A-Physiology*, 111(3): 361-367.
- Kiron, V., Thawonsuwan, J., Panigrahi, A., Scharsack, J. P., & Satoh, S. (2011) Antioxidant and immune defences of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) offered plant oils differing in fatty acid profiles from early stages. *Aquaculture Nutrition*, 17(2): 130-140.
- Kjær, M.A., Todorovic, M., Torstensen, B.E., Vegusdal, A., Ruyter, B. (2008) Dietary n-3 HUFA Affects Mitochondrial Fatty Acid β -Oxidation Capacity and Susceptibility to Oxidative Stress in Atlantic Salmon. *Lipids*, 43 (9): 813-827.
- Kousoulaki K, Østbye TK, Krasnov A, Torgersen JS, Mørkøre T, Sweetman J. 2015. Metabolism, health and fillet nutritional quality in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing n-3-rich microalgae. *J Nutr Sci*. 2015 Jun 11;4:e24. doi: 10.1017/jns.2015.14. eCollection 2015.
- Kousoulaki, K., Mørkøre, T., Nengas, I., Berge, R.K. & Sweetman, J. (2016) Microalgae and organic minerals enhance lipid retention efficiency and fillet quality in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 451, 47-57.
- Krossøy, C., Waagbø, R. & Ørnsrud, R. (2011) Vitamin K in fish nutrition. *Aquaculture Nutrition*, 17, 585-594.
- Kvallestad, A., Høie, S., Thorud, K., Tørud, B. & Lyngøy, A. (2000) Platyspondyly and shortness of vertebral column in farmed Atlantic salmon *Salmo salar* in Norway-description and interpretation of pathological changes. *Diseases of Aquatic Organisms*, 39, 97-108.
- Lall, S.P. & Lewis-McCrea, L.M. (2007) Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish - an overview. *Aquaculture*, 267, 3-19.
- Leaver, M. J., Taggart, J. B., Villeneuve, L., Bron, J. E., Guy, D. R., Bishop, S. C., Houston, R. D., Matika, O., & Tocher, D. R. (2011) Heritability and mechanisms of n-3 long chain polyunsaturated fatty acid deposition in the flesh of Atlantic salmon. *Comp Biochem. Physiol Part D Genomics Proteomics*, 6(1): 62-69.
- Levy BD, Clish CB, Schmidt B, Gronert K, Serhan CN (2001). Lipid mediator class switching during acute inflammation: signals in resolution. *Nat Immunol* 2: 612-619.
- Lewis, Michael J.; Hamid, Noor Khalidah Abdul; Alhazaa, Ramez; m. fl. (2013) Targeted dietary micronutrient fortification modulates n-3 LC-PUFA pathway activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 412, 215-222.
- Ley, R. E. (2010). Obesity and the human microbiome. *Current Opinion in Gastroenterology* 26, 5-11.
- Liland, Nina Sylvia; Simonsen, Adam C.; Duelund, Lars; Torstensen, Bente Elisabeth; Berntssen, Marc; Mouritsen, Ole G.. Polyaromatic hydrocarbons do not disturb liquid-liquid phase coexistence, but increase the fluidity of model membranes. *Chemistry and Physics of Lipids* 2014; Volum 184. s.18-24 (SI 2.422)
- Liland, N. S., Rosenlund, G., Berntssen, M. H. G., Brattelid, T., Madsen, L., & Torstensen, B. E. (2013) Net production of Atlantic salmon (FIFO, Fish in Fish out < 1) with dietary plant proteins and vegetable oils. *Aquaculture Nutrition*, 19(3): 289-300.
- Liland, N. S., Espe, M., Rosenlund, G., Waagbø, R., Hjelle, J. I., Lie, Ø., Fontanillas, R. & Torstensen, B. E. (2013) Diets high in plant protein and phytosterols affect cholesterol metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Br. J. Nutr.*, DOI: 10.1017/S0007114513001347.
- Lie, Ø, Lied, E. & Lambertsen, G. (1987) Lipid digestion in cod (*gadus morhua*) *Comp Biochem Physion, Part B*, 88, 697-700.
- Liu, Y. C., Zhou, Z. G., Yao, B., Shi, P., He, S., Holvold, L. B., & Ringo, E. 2008. Effect of intraperitoneal injection of immunostimulatory substances on allochthonous gut microbiota of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) determined using denaturing gradient gel electrophoresis. *Aquaculture Research*, 39(6): 635-646.

- Llewellyn, M. S., McGinnity, P., Dionne, M., Letourneau, J., Thonier, F., Carvalho, G. R., Creer, S. & Lobo, G.P., Amengual, J., Palczewski, G., Babino, D., von Lintig, J. 2012. Mammalian carotenoid oxygenases: Key players for carotenoid function and homeostasis. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1821, 78-87.
- Lock EJ, Arsiwalla T & Waagbø R (2015) Insect larvae meal as an alternative source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) postsmolt. *Aqua Nutr*, DOI: 10.1111/anu.12343.
- Lock, E.-J., Waagbø, R., Wendelaar Bonga, S. & Flik, G. (2010) The significance of vitamin D for fish: a review. *Aquaculture Nutrition* 16, 100-116.
- Lopez-Jimena, B., Lyons, P., Herath, T., Richards, R.H., Leaver, M., Bell, J.G., Adams, A., Thompson, K.D. (2015). The effect of dietary n-3/n-6 polyunsaturated fatty acid ratio on salmonid alphavirus subtype 1 (SAV-1) replication in tissues of experimentally infected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinary Microbiology*, 178: 19-30.
- Lyons, P. P., Turnbull, J. F., Dawson, K. A. & Crumlish, M. (2015). Exploring the microbial diversity of the distal intestinal lumen and mucosa of farmed rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) using next generation sequencing (NGS). *Aquaculture Research*, n/a-n/a.
- Madsen, L., Rustan, A. C., Vaagenes, H., Berge, K., Dyrøy, E. and Berge, R. K. (1999). Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid affect mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation in relation to substrate preference. *Lipids* 34, 951-963.
- Mansfield, G. S., Desai, A. R., Nilson, S. A., Van Kessel, A. G., Drew, M. D., & Hill, J. E. (2010) Characterization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) intestinal microbiota and inflammatory marker gene expression in a recirculating aquaculture system. *Aquaculture*, 307(1-2): 95-104.
- Martinez-Rubio, L., Evensen, Ø., Krasnov, A., Jørgensen, S.M., Wadsworth, S., Ruohonen, K., Vecino, J.L.G., & Tocher, D.R. (2014). Effects of functional feeds on the lipid composition, transcriptomic responses and pathology in heart of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) before and after experimental challenge with Piscine Myocarditis Virus. *BMC Genomics* 15: 462.
- Martinez-Rubio, L., S. Morais, m. fl. (2013). "Effect of functional feeds on fatty acid and eicosanoid metabolism in liver and head kidney of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) with experimentally induced heart and skeletal muscle inflammation." *Fish Shellfish Immunol* 34(6): 1533-1545.
- Martinez-Rubio, L., Morais, S., Evensen, O., Wadsworth, S., Ruohonen, K., Vecino, J. L. G., Bell, J. G., & Tocher, D. R. (2012) Functional Feeds Reduce Heart Inflammation and Pathology in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) following Experimental Challenge with Atlantic Salmon Reovirus (ASRV). *Plos One*, 7(11): e40266
- Martinez-Rubio, L., Wadsworth, S., Vecino, J. L. G., Bell, J. G., & Tocher, D. R. (2013) Effect of dietary digestible energy content on expression of genes of lipid metabolism and LC-PUFA biosynthesis in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 384: 94-103.
- Menoyo D, Lopez-Bote CJ, Bautista JM *et al.* (2003) Growth, digestibility and fatty acid utilization in large Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed varying levels of n-3 and saturated fatty acids. *Aquaculture* **225**, 295-307.
- Merrifield, D. L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S. J., Baker, R. T. M., Bogwald, J., Castex, M. & Ringo, E. (2010). The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture* 302, 1-18.
- Miller, M. R., Bridle, A. R., Nichols, P. D. & Carter, C. G. (2008). Increased Elongase and Desaturase Gene Expression with Stearidonic Acid Enriched Diet Does Not Enhance Long-Chain (n-3) Content of Seawater Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Journal of Nutrition*, 138 (11): 2179-2185.
- Midtbø, L.K., Ibrahim, M.M., Myrmel, L.S., Aune, U.L., Alvheim, A.R., Liland, N.S., Torstensen, B.E., Rosenlund, G., Liaset, B., Brattelid, T., Kristiansen, K. & Madsen, L. (2013) Intake of farmed Atlantic salmon fed soybean oil increases insulin resistance and hepatic lipid accumulation in mice. *PLoS ONE*, 8, e53094.

- Moen, T., Baranski, M., Sonesson, A. K., & Kjøglum, S. (2009). Confirmation and fine-mapping of a major QTL for resistance to infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (*Salmo salar*): population-level associations between markers and trait. *BMC genomics*, 10(1), 368.
- Montero, D. & Izquierdo, M. (2010) Welfare and health of fish fed vegetable oils as alternative lipid sources to fish oil. *Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Diets* (Eds Turchini G.M., Ng W-K & Tocher D.R.), CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA, s. 439-485.
- Moren, M., Waagbø, R. & Hamre, K. (2011) Chap 4 Micronutrients. In: *Larval Fish Nutrition 1st Edition* (Holt G.J., Ed.), John Wiley & Sons Inc, West Sussex, UK, pp. 117-149.
- Moren, M., T. Naess, and K. Hamre. 2002. Conversion of beta-carotene, canthaxanthin and astaxanthin to vitamin A in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry*. 27:71-80.
- Musso, G., Gambino, R. and Cassader, M. (2011). Interactions Between Gut Microbiota and Host Metabolism Predisposing to Obesity and Diabetes. In *Annual Review of Medicine*, Vol 62, 2011, vol. 62 (ed. C. T. Caskey), pp. 361-380. Palo Alto: Annual Reviews.
- Moldal, T., Løkka, G., Wiik-Nielsen, J., Austbø, L., Torstensen, B. E., Rosenlund, G., Dale, O.B., Kaldhusdal, M. Koppang, E.O. (2014) Substitution of dietary fish oil with plant oils is associated with shortened mid intestinal folds in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *BMC Veterinary Research*, 10, 60-73.
- Mørkøre, T. & Rørvik, K. A. (2001). Seasonal variations in growth, feed utilisation and product quality of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) transferred to seawater as 0+smolts or 1+smolts. *Aquaculture*, 199 (1-2): 145-157.
- Mørkøre, T., Åsli, M., Dessen, J., Sanden, K., Bjerke, M., Hoås, K., & Rørvik, K. (2013) Tekstur og fett i laksefilet. FHF Rapport 900653.
- Mørkøre, T., Ytrestøy, t., Ruyter, B., Torstensen, b., Thomassen, M. 2014. Kvalitetsaspekter hos laks som matvare ved endret fetttsyresammensetning. Nofima rapport 19/2014. FHF prosjekt 900936. ISSN 1890-579x.
- Nanton, D. A., Vegusdal, A., Rora, A. M. B., Ruyter, B., Baeverfjord, G., & Torstensen, B. E. (2007) Muscle lipid storage pattern, composition, and adipocyte distribution in different parts of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed fish oil and vegetable oil. *Aquaculture*, 265(1-4): 230-243.
- Navarrete, P., Espejo, R. T., & Romero, J. 2009. Molecular Analysis of Microbiota Along the Digestive Tract of Juvenile Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Microbial Ecology*, 57(3): 550-561.
- Navarrete, P., Magne, F., Araneda, C., Fuentes, P., Barros, L., Opazo, R., Espejo, R., & Romero, J. (2012) PCR-TTGE Analysis of 16S rRNA from Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Gut Microbiota Reveals Host-Specific Communities of Active Bacteria. *Plos One*, 7(2).
- Navarrete, P., Magne, F., Mardones, P., Riveros, M., Opazo, R., Suau, A., Pochart, P., & Romero, J. (2010) Molecular analysis of intestinal microbiota of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *FEMS Microbiol.Ecol.*, 71(1): 148-156.
- Nayak, S. K. (2010) Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquaculture Research*, 41(11): 1553-1573.
- Nickell, D.C., Bromage, N.R., 1998. The effect of dietary lipid level on variation of flesh pigmentation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 161, 237-251.
- Nonnotte, G., Aubree-Pelletier, A., & Colin, D. A. 1987. Na⁺ transport in perfused intestine and in isolated enterocytes of freshwater trout deprived of essential fatty acid. *Comp Biochem.Physiol A Comp Physiol*, 88(3): 431-436.

- Nordgarden, U., Torstensen, B. E., Frøyland, L., Hansen, T. & Hemre, G. I. (2003). Seasonally changing metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) II - beta-oxidation capacity and fatty acid composition in muscle tissues and plasma lipoproteins. *Aquaculture Nutrition*, 9 (5): 295-303.
- Ng, W.K., Sigholt, T. & Bell, J.G. (2004) The influence of environmental temperature on the apparent nutrient and fatty acid digestibility in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed finishing diets containing different blends of fish oil, rapeseed oil and palm oil. *Aquacult Res*, 35, 1228-1237.
- NRC (2011) Nutrient requirements of fish and shrimp, The national academies press, Washington D.C.
- Olsen, K. H., Grahn, M., & Lohm, J. 2003. The influence of dominance and diet on individual odours in MHC identical juvenile Arctic charr siblings. *Journal of Fish Biology*, 63(4): 855-862.
- Oehme, M., Grammes, F., Takle, H., Zambonino-Infante, J. L., Refstie, S., Thomassen, M. S. & Terjesen, B. F. (2010). Dietary supplementation of glutamate and arginine to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) increases growth during the first autumn in sea. *Aquaculture*, 310(1), 156-163.
- Olsen, R.E., Svardal, A., Eide, T. & Wargelius A. (2012) Stress and expression of cyclooxygenases (cox1, cox2a, cox2b) and intestinal eicosanoids, in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Fish Physiol Biochem* DOI 10.1007/s10695-011-9581-1.
- Olsen, R. E., Henderson, R. J., & Ringo, E. (1998) The digestion and selective absorption of dietary fatty acids in Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Aquaculture Nutrition*, 4(1): 13-21.
- Olsen, R. E., Myklebust, R., Kaino, T., & Ringo, E. (1999) Lipid digestibility and ultrastructural changes in the enterocytes of Arctic char (*Salvelinus alpinus* L.) fed linseed oil and soybean lecithin. *Fish Physiology and Biochemistry*, 21(1): 35-44.
- Olsen, R. E., Myklebust, R., Ringo, E., & Mayhew, T. M. (2000) The influences of dietary linseed oil and saturated fatty acids on caecal enterocytes in Arctic char (*Salvelinus alpinus* L.): a quantitative ultrastructural study. *Fish Physiology and Biochemistry*, 22(3): 207-216.
- Olsen, R.E., Kiessling, A., Milley, J.E., Ross, N.W., Lall, S.P. 2005. Effect of lipid source and bile salts in diet of Atlantic salmon, *Salmo salar*, L., on astaxanthin blood levels. *Aquaculture* 250, 804-812
- Olsvik, P.A., Torstensen, B.E., Hemre, G.-I., Sanden, M. & Waagbø, R. (2011) Hepatic oxidative stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) transferred from a diet based on marine feed ingredients to a diet based on vegetable plant ingredients. *Aquaculture Nutrition* 17, e424-e436.
- Olsvik, P. A., Torstensen, B. E., & Berntssen, M. H. G. (2007) Effects of complete replacement of fish oil with plant oil on gastrointestinal cell death, proliferation and transcription of eight genes' encoding proteins responding to cellular stress in Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Journal of Fish Biology*, 71(2): 550-568.
- Oppedal, F., Berg, A., Olsen, R. E., Taranger, G. L., & Hansen, T. (2006). Photoperiod in seawater influence seasonal growth and chemical composition in autumn sea-transferred Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) given two vaccines. *Aquaculture*, 254(1), 396-410.
- Oxley A, Jolly C, Eide T, Jordal AE, Svardal A, Olsen RE (2010) The combined impact of plant-derived dietary ingredients and acute stress on the intestinal arachidonic acid cascade in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Br J Nutr* 103, 851–86.
- Owen, J. M., Adron, J. W., Middleton, C., & Cowey, C. B. 1975. Elongation and Desaturation of Dietary Fatty-Acids in Turbot *Scophthalmus-Maximus* L, and Rainbow-Trout, *Salmo-Gairdnerii* Rich. *Lipids*, 10(9): 528-531.
- Parker, R.S., 1997. Bioavailability of carotenoids. *Eur. J. Clin. Nutr.* 51, suppl. 1, 86-90.
- Patel, M. D. & Thompson, P. D. (2006) Phytosterols and vascular disease. *Atherosclerosis*, 186, 12-19.
- Penney, R. W., Lush, P. L., Wade, J., Brown, J. A., Parrish, C. C., & Burton, M. P. M. 2006. Comparative utility of egg blastomere morphology and lipid biochemistry for prediction of hatching success in Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Aquaculture Research*, 37(3): 272-283.

- Pickering, A.D. & Pottinger, T.G. (1989) Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiol. Biochem.* 7, 253–258.
- Pickova, J., Dutta, P. C., Larsson, P. O., & Kiessling, A. 1997. Early embryonic cleavage pattern, hatching success, and egg-lipid fatty acid composition: comparison between two cod (*Gadus morhua*) stocks. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54(10): 2410-2416.
- Pickova, J., Kiessling, A., Pettersson, A., & Dutta, P. C. 1999. Fatty acid and carotenoid composition of eggs from two nonanadromous Atlantic salmon stocks of cultured and wild origin. *Fish Physiology and Biochemistry*, 21(2): 147-156.
- Pickova, J. & Morkore, T. (2007) Alternate oils in fish feeds. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(3): 256-263.
- Pond, M. J., Stone, D. M., & Alderman, D. J. (2006) Comparison of conventional and molecular techniques to investigate the intestinal microflora of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 261(1): 194-203.
- Puangkaew, J., V. Kiron, m. fl. (2004). "Nonspecific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids." *Fish & Shellfish Immunology* 16(1): 25-39.
- Rawls, J. F., Samuel, B. S., & Gordon, J. I. (2004) Gnotobiotic zebrafish reveal evolutionarily conserved responses to the gut microbiota. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(13): 4596-4601.
- Remø, S.C., Olsvik, P.A., Torstensen, B.E., Amlund, H., Breck, O. & Waagbø, R. (2011) Susceptibility of Atlantic salmon lenses to hydrogen peroxide oxidation ex vivo after being fed with vegetable oil and methylmercury. *Exp. Eye Res.* 92(5), 414-424.
- Remø, S.C. Hevrøy, E.M. Olsvik P.A., Fontanillas R., Breck O. and Waagbø R. (2014) The dietary histidine requirement to reduce the risk and severity of cataracts is higher than the requirement for growth in Atlantic salmon smolt, independently of dietary lipid source. *British Journal of Nutrition* (2014), 111, pp 1759–1772.
- Remø, S.C., Patel, S., Jørgensen, S.V., Araujo, P., Fiksdal, I.U., McGurk, C., Rosenlund, G., Sissener, N.H., B.E. Torstensen, Waagbø, R.. Kva betyr omega-6/omega-3 balanse og metta fett i fôr for motstandsdyktighet mot PD? Havbrukskonferansen Bodø, 18.-20. April, 2016
- Richard, N., Kaushik, S., Larroquet, L., Panserat, S., & Corraze, G. (2006) Replacing dietary fish oil by vegetable oils has little effect on lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Br.J.Nutr.*, 96(2): 299-309.
- Rorvik, K. A., H. Alne, m. fl. (2007). "Does the capacity for energy utilization affect the survival of post-smolt Atlantic salmon, *Salmo salar* L., during natural outbreaks of infectious pancreatic necrosis?" *Journal of Fish Diseases* 30(7): 399-409.
- Rorvik, K. A., Dehli, A., Thomassen, M., Ruyter, B., Steien, S. H., & Salte, R. (2003) Synergistic effects of dietary iron and omega-3 fatty acid levels on survival of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., during natural outbreaks of furunculosis and cold water vibriosis. *Journal of Fish Diseases*, 26(8): 477-485.
- Rosenlund, G., Obach, A., Sandberg, M.G., Standal, H. & Tveit, K. (2001) Effect of alternative lipid sources on long-term growth performance and quality of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquac Res*, 32, 323-328.
- Rosenlund, G., Torstensen, B.E., Stubhaug, I., Usman, N., Sissener, N.H. Atlantic salmon require long-chain n-3 fatty acids for optimal growth throughout the seawater period, 2016, *Journal of Nutritional Science*. vol. 5, e19, 1-13
- Ruyter, B.Tone-Kari Østbye, Marte Avranden Kjær, Anna Sonesson, Turid Mørkøre og Gerd Marit Berge Kan nivå av epa og dha i fôr i tidlige livsfaser påvirke laksens helse og sammensetning i seinere livsfaser? *FHF-prosjekt 900770 – delrapport 1*. 2015

- Ruyter, B., Skugor, S., Takle, H., Torgersen, J., Krasnov, A., Sørensen, M., & Todorovic, M. (2012) Dietary lipids and exercise influence fat deposition and inflammatory status in Atlantic salmon visceral adipose tissue. *ISFNF*.
- Ruyter B, Røsjø C, Grisdale-Helland G *et al.* (2003) Influence of temperature and high dietary linoleic acid content on esterification, elongation, and desaturation of PUFA in Atlantic salmon hepatocytes. *Lipids* **8**, 833-840.
- Ruyter, B., Moya-Falcon, C., Rosenlund, G., & Vegusdal, A. (2006) Fat content and morphology of liver and intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*): Effects of temperature and dietary soybean oil. *Aquaculture*, 252(2-4): 441-452.
- Ruyter, B., Rosjo, C., Einen, O., & Thomassen, M. S. (2000a) Essential fatty acids in Atlantic salmon: effects of increasing dietary doses of n-6 and n-3 fatty acids on growth, survival and fatty acid composition of liver, blood and carcass. *Aquaculture Nutrition*, 6(2): 119-127.
- Ruyter, B., Rosjo, C., Einen, O., & Thomassen, M. S. (2000b) Essential fatty acids in Atlantic salmon: time course of changes in fatty acid composition of liver, blood and carcass induced by a diet deficient in n-3 and n-6 fatty acids. *Aquaculture Nutrition*, 6(2): 109-117.
- Ruyter, B. and Thomassen, M.S. (1999) Metabolism of n-3 and n-6 fatty acids in Atlantic salmon liver: Stimulation by essential fatty acid deficiency. *Lipids*. 34: 1167-1176.
- Ruyter, B., Bou M., Bæverfjord, G., Østbye, T.K., Ytrestøyl, T., Bjerke, M., Sigholt, T. og Berge, G. 2016. Langtidseffekter av lave omega-3 nivåer i fôr på laksens helse. FHF rapport prosjekt 900957.
- Ruyter, Bente, Tone Kari Østbye, Odd Helge Romarheim, Astrid Nilsson, Inger Øyen Kristiansen, Målfrid Bjerke, Silje Kristine Bergum og Gerd Berge; Vil ketolinsyre (22:1n-11) fra lodde-, sild- og tobisolle fører til bedret utnyttelse av omega-3 fettsyrer?; FHF: 901017
- Ruzickova, J., Rossmeisl, M., Prazak, T., Flachs, P., Sponarova, J., Vecka, M., Tvrzicka, E., Bryhn, M., & Kopecky, J. (2004) Omega-3 PUFA of marine origin limit diet-induced obesity in mice by reducing cellularity of adipose tissue. *Lipids*, 39(12): 1177-1185.
- Sandnes, K. (1991) Vitamin C in fish nutrition - a review. *Fiskeridirektoratets Skrifter, Serie Ernæring*, 4, 3-32.
- Salte, R., M. Thomassen, m. fl. (1988). "Do high levels of dietary polyunsaturated fatty acids (EPA/DHA) prevent diseases associated with membrane degeneration in farmed Atlantic salmon at low water temperatures?" *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 8(3).
- Sanden, M., Stubhaug, I., Berntssen, M.H.G., Lie, Ø. & Torstensen, B.E. (2011) Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) as a net producer of long-chain marine ω-3 fatty acids. *J Agric Food Chem*, 59, 12697-12706.
- Sanden, M., Liland, N.S., Sæle, Ø. Rosenlund, G. Du, S. Torstensen, B. E Stubhaug, I. Ruyter, B. Sissener, N.H.. Minor metabolic perturbations in the liver of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) – caused by suboptimal dietary content of nutrients from fish oil? In press, *Fish Physiol Biochem* DOI 10.1007/s10695-016-0233-3
- Sargent, J. (1995) Origins and functions of egg lipids: nutritional implications. In N. Bromage & R. Roberts (Eds.), *Brood stock management and egg and larval quality*: 353-372. Cambridge, UK: Blackwell Science.
- Saw, C.L.L., A.Y. Yang, Y. Guo, and A.-N.T. Kong. 2013. Astaxanthin and omega-3 fatty acids individually and in combination protect against oxidative stress via the Nrf2-ARE pathway. *Food and Chemical Toxicology*. 62:869-875.
- Schiedt, K., F.J. Leuenberger, M. Vecchi, and E. Glinz. 1985. Absorption, retention and metabolic transformations of carotenoids in rainbow trout, *salmo salar* and chicken. *Pure and Applied Chemistry*. 57:685-692

- Seierstad, S. L., Svindland, A., Larsen, S., Rosenlund, G., Torstensen, B. E. and Evensen, Ø. (2007). Temporal and spatial development of intimal thickening of coronary vessels in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) correlates with heart and fish weight while dietary lipid sources have no influence. *J. Fish Dis.* 31, 401-413.
- Serhan CN, Clish CB, Brannon J, Colgan SP, Chiang N, Gronert K. (2000). Novel functional sets of lipid-derived mediators with anti-inflammatory actions generated from omega-3 fatty acids via cyclooxygenase 2-nonsteroidal antiinflammatory drugs and transcellular processing. *J Exp Med* 192: 1197–1204.
- Serhan CN, Hong S, Gronert K, Colgan SP, Devchand PR, Mirick G *m.fl.* (2002). Resolvins: a family of bioactive products of omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter proinflammation signals. *J Exp Med* 196: 1025–1037
- Serhan CN, Savill J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nature Immunol* 2005; 6: 11917.
- Serhan CN, Chiang N (2008). Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. *Br J Pharmacol* 153: S200–S215.
- Sigurgisladottir, S, Lall, S.P., Parrish, C.C. & Ackman, R.G. (1992) Cholestane as a digestibility marker in the absorption of polyunsaturated fatty acid ethyl esters in Atlantic salmon. *Lipids*, 27, 418-424.
- Shearer, K. D., Åsgård, T., Andorsdóttir, G., & Aas, G. H. (1994). Whole body elemental and proximate composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*) during the life cycle. *Journal of Fish Biology*, 44(5), 785-797.
- Sila, A., Kamoun, Z., Ghilissi, Z., Makni, M., Nasri, M., Sahnoun, Z., Nejdard-Arroume, N., Bougatef, a. 2015. Ability of natural astaxanthin from shrimp by-products to attenuate liver oxidative stress in diabetic rats. *Pharmacological reports* 67, 310-316.
- Sissener, N.H., Torstensen, B.E., Stubhaug, I., Rosenlund, G. (2016). Long term feeding of Atlantic salmon in seawater with low dietary long-chain n-3 fatty acids affects tissue status of brain, retina and red blood cells, in press, *British Journal of Nutrition*, 115, 1919-1929. doi:10.1017/S0007114516000945
- Sissener, N.H., Waagbø, R., Rosenlund, G. Tvenning, L., Susort, S., Lea, T. B., Oaland, Ø., Chen, L. Breck, O. Reduced n-3 long chain fatty acid levels in feed for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) do not reduce growth, robustness or product quality through an entire full scale commercial production cycle in seawater. Manuskript sendt inn til Aquaculture.
- Sissener, N.H. Sanden, M. Torstensen, B. E. Waagbø, R. Stubhaug, I. Rosenlund G (in press). High dietary 18:2n-6 does not inhibit elongation and desaturation of 18:3n-3 to EPA and DHA in Atlantic salmon. in press, *Aquaculture Nutrition*. DOI: 10.1111/anu.12457
- Sissener, N.H., Torstensen, B.E., Liland, N., Stubhaug, I., Rosenlund, G (in press). Temperature modulates liver lipid accumulation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed low dietary levels of n-3 long-chain fatty acids, in press, *Aquaculture Nutrition*. doi: 10.1111/anu.12453
- Sissener, N.H. Ajuro, P. Waagbø, R. Torstensen, B. E. Rosenlund, G. Sanden, M. Omega-6 / omega-3 ratio affects EPA and DHA content in cell membranes and eicosanoid production in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), manuskript under bearbeiding.
- Skjærven, K. H., Fernandes, J. M.O., Bock, C., Hadler, J., Aanes, H. Lie, K.K., Dahl, J.A., Hamre, K. (2015) Insufficient Methionine and B-vitamin Levels in Zebrafish Feed Increases the Liver Lipid Accumulation and Affects Redox Regulation and One Carbon Metabolism in the Next Generation. SSR 2015, San Juan, Puerto Rico
- Speranza, L., M. Pesce, A. Patruno, S. Franceschelli, M.A. de Lutiis, A. Grilli, and M. Felaco. 2012. Astaxanthin Treatment Reduced Oxidative Induced Pro-Inflammatory Cytokines Secretion in U937: SHP-1 as a Novel Biological Target. *Marine Drugs*. 10:890-899.

- Stubhaug, I., Lie, Ø. and Torstensen, B. E. (2007). Fatty acid productive value and β -oxidation capacity in Atlantic salmon tissues (*Salmo salar* L.) fed on different lipid sources along the whole growth period. *Aquaculture Nutrition* 13, 145-155.
- Sæle, Ø., Torstensen, B.E., Liland, N. & Waagbø, R. (2014) Et fullskalaforsøk med lavt innhold av EPA og DHA i fôret – betydning for struktur av tarm og tarminflammasjon. FHF-prosjekt 900958 – Sluttrapport. Pp. 11.
- Søfteland, L. I., Rosvoll; K., Jennifer A.; H., Tiago S.F.; Størseth, T., Røvik; Sommer, U.; Berntssen, M.; Viant, M.R.; Rise, M.L.; Waagbø, R.; Torstensen, B.E.; Booman, M.; Olsvik, P.A. Toxicological effect of single contaminants and contaminant mixtures associated with plant ingredients in novel salmon feeds. *Food and Chemical Toxicology* 2014; Volum 73. s.157 (SI 2.895)
- Søfteland, L., Berntssen, M.H.G., Kirwan, J.A., Størseth, T.R., Viant, M.R., Torstensen, B.E., Waagbø, R., Olsvik, P. A. (2016) Omega-3 and alpha-tocopherol provide more protection against contaminants in novel feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) than omega-6 and gamma tocopherol. *Toxicology Reports*, 3, 211-224.
- Tacon, A.G.J. (1992) Nutritional fish pathology. Morphological signs of nutrient deficiency and toxicity in farmed fish. FAO Fish Technical Paper. No. 330. Rome, FAO. 1992. 75 p.
- Takle, H. (2012) FHF Rapport 900457.
- Taylor, J.F., Waagbø, R., Diez-Padrisa, M., Campbell, P., Walton, J., Hunter, D., Matthew, C. & Migaud, H. (2015) Adult triploid Atlantic salmon (*Salmo salar*) have higher dietary histidine requirements to prevent cataract development in seawater. *Aquaculture Nutrition*, 21, 18-32.
- Terjesen, B. F., Verreth, J., & Fyhn, H. J. (1997) Urea and ammonia excretion by embryos and larvae of the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). *Fish Physiology and Biochemistry*, 16(4): 311-321.
- Thomassen MS, Rein D, Berge GM *et al.* (2012) High dietary EPA does not inhibit $\Delta 5$ and $\Delta 6$ desaturases in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed rapeseed oil diets. *Aquaculture* 360–361, 78-85.
- Thomassen m. fl., 2016. Organ and phospholipid class fatty acid specificity in the response to dietary depletion of essential n-3 fatty acids in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) (Accepted *Aquaculture Nutrition*)
- Thompson, K. D., Tatner, M. F., & Henderson, R. J. (1996) Effects of dietary (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acid ratio on the immune response of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture Nutrition*, 2(1): 21-31.
- Thanuthong, T., Francis, D. S., Manickam, E., Senadheera, S. D., Cameron-Smith, D. & Turchini, G. M. (2011). Fish oil replacement in rainbow trout diets and total dietary PUFA content: II) Effects on fatty acid metabolism and in vivo fatty acid bioconversion. *Aquaculture*, 322: 99-108.
- Thanuthong, T., Francis, D. S., Senadheera, S. P. S. D., Jones, P. L. & Turchini, G. M. (2012). Short-term food deprivation before a fish oil finishing strategy improves the deposition of n-3 LC-PUFA, but not the washing-out of C18 PUFA in rainbow trout. *Aquaculture Nutrition*, 18 (4): 441-456.
- Thibault, M., Blier, P. U. & Guderley, H. (1997). Seasonal variation of muscle metabolic organization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 16 (2): 139-155.
- Tocher, D. R., Bell, J. G., Dick, J. R., & Crampton, V. O. (2003) Effects of dietary vegetable oil on Atlantic salmon hepatocyte fatty acid desaturation and liver fatty acid compositions. *Lipids*, 38(7): 723-732.
- Tocher, D. R., Bell, J. G., Dick, J. R., Henderson, R. J., McGhee, F., Michell, D., & Morris, P. C. (2000) Polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation and the effects of dietary linseed and rapeseed oils. *Fish Physiology and Biochemistry*, 23(1): 59-73.
- Tocher, D. R., Bell, J. G., MacGlaughlin, P., McGhee, F., & Dick, J. R. (2001) Hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition of liver in salmonids: effects of dietary vegetable oil. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, 130(2): 257-270.

- Todorčević, M., Kjaer, M. A., Djaković, N., Vegusdal, A., Torstensen, B. E., & Ruyter, B. (2009) N-3 HUFAs affect fat deposition, susceptibility to oxidative stress, and apoptosis in Atlantic salmon visceral adipose tissue. *Comp Biochem. Physiol B Biochem. Mol. Biol.*, 152(2): 135-143.
- Todorčević, M., Vegusdal, A., Gjoen, T., Sundvold, H., Torstensen, B. E., Kjaer, M. A., & Ruyter, B. (2008) Changes in fatty acids metabolism during differentiation of Atlantic salmon preadipocytes; Effects of n-3 and n-9 fatty acids. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1781(6-7): 326-335.
- Todorčević, M., Kjær, M.A., Djaković, N., Vegusdal, A., Torstensen, B.E., Ruyter, B. (2008). N-3 PUFAs affect fat deposition susceptibility to oxidative stress and apoptosis in Atlantic salmon visceral adipose tissue. *Comp. Biochem. Physiol.* Volume 152, Issue 2, February 2009, Pages 135-143.
- Torstensen B.E., Ruyter, B., Sissener, N.H., Østbye, T.-K., Waagbø, R., Jørgensen, S.M., Ytteborg, E., Rud, I., Liland, N., Mørkøre, T., Dessen, J.E. (2013). Utredning av Fett for Fiskehelse, Effekter av endret fettsyresammensetning i fôr til laks relatert til fiskens helse og velferd (robust fisk). Rapport til FHF, juni 2013.
- Torstensen, B. E., Bell, J. G., Rosenlund, G., Henderson, R. J., Graff, I. E., Tocher, D. R., Lie, O., & Sargent, J. R. 2005. Tailoring of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) flesh lipid composition and sensory quality by replacing fish oil with a vegetable oil blend. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(26): 10166-10178.
- Torstensen, B. E., Espe, M., Sanden, M., Stubhaug, I., Waagbo, R., Hemre, G. I., Fontanillas, R., Nordgarden, U., Hevroy, E. M., Olsvik, P., & Berntssen, M. H. G. (2008) Novel production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) protein based on combined replacement of fish meal and fish oil with plant meal and vegetable oil blends. *Aquaculture*, 285(1-4): 193-200.
- Torstensen, B. E., Espe, M., Stubhaug, I., & Lie, O. (2011) Dietary plant proteins and vegetable oil blends increase adiposity and plasma lipids in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *British Journal of Nutrition*, 106(5): 633-647.
- Torstensen, B. E., Frøyland, L., & Lie, O. (2004a) Replacing dietary fish oil with increasing levels of rapeseed oil and olive oil - effects on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) tissue and lipoprotein lipid composition and lipogenic enzyme activities. *Aquaculture Nutrition*, 10(3): 175-192.
- Torstensen, B.E., Frøyland, L., Ørnsrud, R. & Lie, Ø. (2004b) Tailoring of a cardioprotective muscle fatty acid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed vegetable oils. *Food Chem*, 87, 567-580.
- Torstensen, B.E., Lie, Ø. & Frøyland, L. (2000) Lipid metabolism and tissue composition in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)—effects of capelin oil, palm oil, and oleic acid-enriched sunflower oil as dietary lipid sources. *Lipids*, 35, 653-664.
- Torstensen, B. E., Lie, Ø. & Hamre, K. (2001). A factorial experimental design for investigation of effects of dietary lipid content and pro- and antioxidants on lipid composition in Atlantic salmon (*Salmo salar*) tissues and lipoproteins. *Aquaculture Nutrition*, 7 (4): 265-276.
- Turchini, G.M., Francis, D.S., Keast, R.S.J. & Sinclair, A.J. (2011) Transforming salmonid aquaculture from a consumer to a producer of long chain omega-3 fatty acids. *Food Chem*, 124, 609-614.
- Turchini, G. M. & Francis, D. S. (2009). Fatty acid metabolism (desaturation, elongation and beta-oxidation) in rainbow trout fed fish oil- or linseed oil-based diets. *British Journal of Nutrition*, 102 (1): 69-81.
- Turchini, G. M., Torstensen, B. T. and Ng, W. K. (2009). Fish oil replacement in finfish nutrition. *Rew. Aquaculture* 1, 10-57.
- Turchini, G.M. Emery, J.A. Trushenski, J. Norambuena F.. 2014. Distinguishing the nutritional requirements and physiological fate of dietary EPA and DHA in Atlantic salmon. *Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism*, Volume 1, December 2014, Pages 9-10
- Tort, L., Balasch, J.C. & MacKenzie, S. (2004) Fish health challenge after stress. Indicators of immunocompetence. *Contributions to Science*, 2, 443-454.

- Tröbø, Chr., Rhodes, J., Sanderson, J. Breck, O. & Waagbø, R. (2010) Effect of plant-based feed ingredients on osmoregulation in the Atlantic salmon lens. *Comp. Biochem. Physiol Part B* 155, 354-362.
- Turnbaugh, P. J. & Gordon, J. I. (2009) The core gut microbiome, energy balance and obesity. *Journal of Physiology-London*, 587(17): 4153-4158.
- Villeneuve, L., Gisbert, E., Zambonino-Infante, J., Quazuguel, L., Cahu, P., (2005). Effect of nature of dietary lipids on European sea bass morphogenesis: implication of 12 retinoid receptors. *Br. J. Nutr.* 94: 877–884.
- Villeneuve, L., Gisbert, E., Le Delliou, H., Cahu, C.L., Zambonino-Infante, J.L., (2006). Intake of high levels of levels of vitamin A and polyunsaturated fatty acids during different developmental periods modifies the expression of morphogenesis genes in European seabass (*Dicentrarchus labax*). *Br. J. Nutr.* 95 : 677–687.
- Wall, T. & Bjerkås, E. (1999) A simplified method of scoring cataracts in fish. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 19, 162-165.
- Waagbø R. (1994) The impact of nutritional factors on the immune system in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: a review. *Aquaculture and Fisheries Management* 25: 175-197
- Waagbø, R., Bjerkås, E., Hamre, K., Berge, R., Wathne, E., Lie, Ø. & Torstensen, B. (2003) Cataract formation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. smolt relative to dietary pro- and antioxidants and lipid level. *Journal of Fish Diseases*, 26, 213-229.
- Waagbø, R., Breck, O. & Tortstensen, B.E. (2004) Dietary lipid regimes can affect cataract development in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) growers (Oral) In 11th International Symposium on Nutrition and Feeding in Fish, Phuket, Thailand.
- Waagbø, R., Hosfeld, C.D., Fivelstad, S., Olsvik, P.A. & Breck, O. (2008) The impact of variable water gases on cataract formation, muscle and lens free amino acids, and lens antioxidant enzyme and heat shock protein transcription in smolting Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Comparative Biochemistry and Physiology A* 149, 396-404.
- Waagbø, R., Tröbø, C., Koppe, W., Fontanillas, R. & Breck, O. (2010) Dietary histidine supplementation prevent cataract development in adult Atlantic salmon, *Salmo salar* L in sea. *Brit. J. Nutr.* 104, 1460-1470.
- Waagbø, R., Berntssen, M. H. G., Danielsen, T., Helberg, H., Kleppa, A. L., Berg Lea, T., Rosenlund, G., Tvenning, L., Susort, S., Vikeså, V., m. fl. (2013). Feeding Atlantic salmon diets with plant ingredients during the seawater phase – a full-scale net production of marine protein with focus on biological performance, welfare, product quality and safety. *Aquaculture Nutrition*: n/a-n/a.
- Waagbø, R., Breck, O., Kryvi, H. & Ørnsrud, R. (2005) Final report of the Workshop Bone disorders in intensive aquaculture, pp. 1-42. NIFES, Bergen.
- Waagbø, R. (2010) Water soluble vitamins in fish ontogeny. *Aquaculture Research* 41, 733-744.
- Waagbø, R. (2006) Feeding and disease resistance in fish In *Biology of growing animal* (Mosenthin, J., m. fl. eds.), Vol. Chap 13, pp. 387-415. Elsevier Limited.
- Waagbø, R. (2008) Chap 15 Reducing production related diseases in farmed fish. In: *Improving farmed fish quality and safety* (Lie Ø, Ed.), VS Woodhead Publishing, pp 363-398.
- Waagbø R., Sandnes K., Lie Ø. and Nilsen E.R. (1993a) Health aspects of dietary lipids and vitamin E in Atlantic salmon (*Salmo salar*). I. Erythrocyte total lipid fatty acid composition, haematology and humoral immune response. *Fisk. Dir. Skr. Ser. Ernæring*, 6(1): 47-62.
- Waagbø R., Sandnes K., Jørgensen J., Engstad R. and Lie Ø. (1993b) Health aspects of dietary lipids and vitamin E in Atlantic salmon (*Salmo salar*). II. Spleen and erythrocyte phospholipid fatty acid composition, nonspecific immunity and disease resistance. *Fisk. Dir. Skr. Ser. Ernæring*, 6(1): 63-80.
- Wargelius, A, Fjellidal, P. G., Grini, A., Gil-Martens, L., Kvamme, B-O. & Hansen, T. (2010) MMP-13 (Matrix MetalloProteinase 13) expression might be an indicator for increased ECM remodelling and early signs of vertebral

- compression in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Journal of Applied Ichthyology*, 26, issue 2, pages 366-371.
- Watanabe, T., Takeuchi, T., Saito, M., & Nishimura, K. (1984) Effect of Low Protein-High Calorie Or Essential Fatty-Acid Deficiency Diet on Reproduction of Rainbow-Trout. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 50(7): 1207-1215.
- Watanabe T (1982) Lipid nutrition in fish. *Comp Biochem Physiol B: Comp Biochem* **73**, 3-15.
- Watanabe, T. & Vassallo-Agius, R. (2003) Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquaculture*, 227(1-4): 35-61.
- Watkins, B.A., Lippman, H.E., LeBouteiller, L., Li, Y., Seifert, M.F., 2001. Bioactive fatty acids: role in bone biology and bone cell function. *Progress in Lipid Research* 40, 125-148.
- Wendelaar Bonga, S.E. (1997) The stress response in fish. *Physiological Reviews*, 77, 591-625.
- Witten, P.E., Obach, A., Huysseune, A. & Baeverfjord, G. (2006) Vertebrae fusion in Atlantic salmon (*Salmo salar*): Development, aggravation and pathways of containment. *Aquaculture*, 258, 164-172.
- Witten, P. E., Gil-Martens L., Huysseune, A., Takle H. & Hjelde, K. (2009) Classification and developmental relationships of vertebral body malformations in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 295, 6–14.
- Wong, S., Waldrop, T., Summerfelt, S. & other authors (2013). Aquacultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Possess a Large Core Intestinal Microbiota That Is Resistant to Variation in Diet and Rearing Density. *Applied and Environmental Microbiology* 79, 4974-4984.
- Ytrestøyl, T., H. Takle, J. Kolarevic, S. Calabrese, G. Timmerhaus, T.O. Nilsen, S.O. Handeland, S.O. Stefansson, L.O.E. Ebbesson, B.F. Terjesen 2015. Atlantic salmon post-smolts in RAS. Effects of salinity, exercise and timing of seawater performance, physiology and welfare. Abstract Nordic RAS, Molde 30.10-31.10 2015.
- Ytrestøyl, T., Struksnæs, G., Koppe, W., Bjerkgeng, B. 2005. Effects of temperature and feed intake on astaxanthin digestibility and metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Comp. Biochem. Physiol.* 142, 445-455.,
- Ytrestøyl, T., Aas, T.S., Åsgård, T., 2015. Utilisation of feed resources in production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Norway. *Aquaculture* 448, 365-374
- Ytrestøyl, T., T.S. Aas, and T. Åsgård. 2015. Utilisation of feed resources in production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Norway. *Aquaculture*. 448:365-374.
- Ytteborg, E. Baeverfjord, G., Torgersen, J., Hjelde, K. & Takle, H. (2010) Molecular pathology of vertebral deformities in hyperthermic Atlantic salmon (*Salmo salar*). *BMC Physiology* 2010 10,12.
- Yanes-Roca, C., Rhody, N., Nystrom, M., & Main, K. L. (2009) Effects of fatty acid composition and spawning season patterns on egg quality and larval survival in common snook (*Centropomus undecimalis*). *Aquaculture*, 287(3-4): 335-340.
- Zarkasi, K. Z., Abell, G. C. J., Taylor, R. S., Neuman, C., Hatje, E., Tamplin, M. L., Katouli, M. & Bowman, J. P. (2014). Pyrosequencing-based characterization of gastrointestinal bacteria of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) within a commercial mariculture system. *Journal of Applied Microbiology* 117, 18-27.
- Zarkasi, K. Z., Taylor, R. S., Abell, G. C., Tamplin, M. L., Glencross, B. D. & Bowman, J. P. (2016). Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) Gastrointestinal Microbial Community Dynamics in Relation to Digesta Properties and Diet. *Microb Ecol* 71, 589-603.

Ørnsrud R., Lock E.-J., Fjellidal P. G. & Waagbø R. (2013) Establishing an upper level of vitamin A in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture Nutrition* (in press)

Østbye, T.-K., Kjær, M., Ruyter, B., & m.fl. (2012) Laks som netto produsent av omega-3. ISFNF.

Østbye, T.-K., Berge, G. M., Sonesson, A., Krasnov, A. & Ruyter B. (2015). Kan forlenget opphold i ferskvann, før overføring til saltvann, påvirke laksens kapasitet til å omdanne 18:3n-3 til EPA og DHA? FHF prosjekt 900770 – delrapport 3.