

FHF 901458-

***Forebyggende ernæring mot lus på laks - forsøk og dokumentasjon på betydning av samvirkning mellom aktive tilsetninger og grunnfôr.***

Faglig sluttrapport fra Aller Aqua Norway AS- oversikt og hovedfunn

Følgende åpne delrapporter fra prosjektet foreligger foruten foreliggende rapport:

- *Nofima Rapport 30/2019 datert November 2019: **Forebyggende ernæring mot lus på laks***  
**Forsøk og dokumentasjon på betydning av samvirkning mellom aktive tilsetninger og grunnfôr.**

André S Bogevik, Lene Sveen, Elisabeth Ytteborg, Christian René Karlsen, Carlo Lazado, Aleksei Krasnov, Gerrit Timmerhaus, Linda Andersen, Steffen H Blindheim, Ole Myre, Grigory Merkin, Mearge Okubamichael og Karin Pittman

- *Norsk Sjømatsenter: **Bruk av Aller Active med mineralingrediens i fôr til laksefisk***  
*Kostnader og nytte -Noen simuleringer*

Cand Oecon Jørgen Borthen, Norsk Sjømatsenter

Aller Aqua Norway AS takker FHF for god støtte og godt samarbeid i prosjektet.

## *Forebyggende ernæring mot lus på laks - forsøk og dokumentasjon på betydning av samvirkning mellom aktive tilsetninger og grunnfôr.*

### 1. SAMMENDRAG

#### *Sammendrag norsk*

Aller Aqua Norway AS har vært prosjektansvarlig, og stått for avgjørelser i prosjektet. Dette gjelder valg av mineralingredienser til uttesting i forsøk, godkjenning av fôrresepter og forsøksdesign. Nofima har vært FoU-ansvarlig og stått for planlegging av fôringsforsøk med laks ved ILAB og småmerdforsøk ved Seamatech sitt anlegg ved Vadheim. Til disse forsøkene ble det brukt en mineralingrediens valgt av Aller Aqua ut fra in vitro forsøk ved ILAB, tilsatt etter anbefalinger 4% i forsøksfôret produsert ved Nofimas Førteknologisenter. Nofima-produsert BF-fôr viste seg høst 2018 å inneholde verdier av jod (1200 mg/kg) over øvre tillatte grenseverdi (20 mg/kg) grunnet en blandingsfeil av mineralingrediensen Biofeed Forte gjort av produsenten, Pharmatech AS. Nofima-produsert kontrollfôr uten mineralingrediensen hadde et jodinnhold på 7 mg/kg. Effekter observert i karforsøk ved ILAB og småmerdforsøk Vadheim 2018 er derfor ikke kommersielt relevant, da de observerte effektene ikke kan tilskrives jodinnholdet eller øvrige komponenter i mineralingrediensen. Til tross for dette ble det observert interessante funn på fisk fôret med BF-fôr på lusetall og skinnets morfologi/fysiologi som diskuteres i rapporten. Disse funnene danner grunnlag for videre studier for å forstå effekter av fôringredienser som kan påvirke skinnhelse og redusere lusetall hos laks og regnbueørret.

Det er utført betydelige analyser av skinn og vev hos Quantidoc AS og hos Nofima, mens ILAB AS har gjort innledende karforsøk. Det vises til Nofimas delrapport nr. 30/2019 for å lese resultatene. Det er også utført en kost/nyttevurdering, se egen delrapport, som måtte baseres på de innledende forsøk som ble gjort i 2015-17, grunnet feildoseringen i 2018. Resultatet viste at simuleringene gir positive resultater på produksjonskostnad per kg solgt fisk forutsatt at en sparer minst 2 behandlinger per generasjon. Rapporten viser at i snitt foretaes 2,5-4 avlusninger årlig per merd i bruk på Vestlandet.

#### *English summary/recommendations:*

Aller Aqua Norway AS have in collaboration with Biofeed developed an ingredient (BF) that appears to in-activate adult sea lice (in vitro model, ILAB). Trials at the Aller Aqua R&D-licenses have shown that BF-feeds to rainbow trout appears to reduce lice number, while this effect are not observed in Atlantic salmon. The FHF project was given to further develop the ingredient to target a feed that also can reduce lice numbers in Atlantic salmon. Aller Aqua Norway have been the project leader and provided design and ingredients for the experiments. Spring 2018 an ingredient provided by Biofeed where chosen due to its in-activation of adult lice. The ingredient were provided to Nofima June 2018 to be included in feeds for trial in tank at ILAB and sea cages at Seamatech. However, analysis of feed and fish after the trials showed high value of iodine (1200 mg/kg) due to inclusion of components in the Biofeed ingredients. The iodine content in the control feed were 7mg/kg.

Significant analyses of skins and tissues have been performed at Quantidoc AS and at Nofima, while ILAB AS has made initial tests in small scale. Nofima Rapport nr 30/2019 will give the results. A cost / benefit assessment has also been carried out, see separate report from Norsk Sjømatsenter, which had to be based on the initial trials made in 2015-17, due to the wrong dosage of iodine in 2018. The result showed that the simulations produce positive results on production cost per kg of fish sold, provided that one saves at least 2 louse treatments per generation. The report shows that, on average, 2.5-4 delousing operations are made annually per cage in use in Western Norway.

The experiments provided interesting results (e.g. reduced lice number and altered skin morphology/physiology) that are discussed in the Nofima report (Nofima 30/2019), and could be basis for further research on the nutritional impact on skin health and sea lice in Atlantic salmon and rainbow trout.

## 2. INNLEDNING

- *Faglig bakgrunn for at prosjektet ble igangsatt*

Aller Aqua Norway AS ble i 2017 gjennom en åpen utlysning tildelt midler fra FHF (prosjekt nr 901458) for å dokumentere effekten av mineralingrediensen Biofeed Forte (BF) mot lusesmitte på laks. Forsøk på regnbueørret ved Aller Aqua sin FoU-konsesjon Floteneset (Seamatech AS) har i 2 produksjoner 2015-2018 indikert effekter av BF-fôr på lusetall av hunnlus. Det er utført tilsvarende forsøk på laks ved lokaliteten Leland (Fylkesnes Fisk AS) i 2017, men effekter av BF-fôret på lusetall kunne ikke påvises i dette forsøket. Formålet med prosjektet var derfor å gjøre endringer på ingrediensen slik at den gav bedre virkning mot lus på laks.

- *Prosjektets omfang*

Aller Aquas kommersielle strategi på feltet er todelt:

- Finne fram til et fôr med tilsetninger som virker mot lus
- Finne årsakene til virkningen

De definerte målene i FHF- prosjektet var:

Hovedmålet til prosjektet: å minimalisere mekanisk/medikamentelle avlusning ved å bruke ernæringsrelatert strategi.

*Prosjektets 3 delmål og 2 arbeidspakker var:*

1. *Finne optimal tilsetning av mineraler i forhold til lusevirkning*
2. *Virkning av ulike balanser og design mellom grunnfôr og tilsetning utprøves og dokumenteres*
3. *Kost/nytte-analyse*

Arbeidspakke 1: Fôrdesign laks (Aller, NOFIMA og ILAB). Se Nofima rapport

Arbeidspakke 2: Laks mot ørret (samarbeid mot et NFR- prosjekt i denne arbeidspakken)- karforsøk

- *Prosjektorganisering (roller/ansvar: prosjektgruppe, styringsgruppe)*

Organisering har fulgt prosjektbeskrivelsen. Den besto av:

- Prosjektansvarlig: Daglig leder Sturle Skeidsvoll , mobil 97701367, Aller Aqua Norway; aller-aq@online.no
- Daglig leder Erik Fylkesnes, mobil 90583355, Fylkesnes fisk; erik@fylkesnesfisk.no
- Forskerne Andre S Bøgevik, mobil 93671232 og Bjarne Hatlen, NOFIMA; andre.bøgevik@nofima.no og bjarne.hatlen@nofima.no
- Prosjektleder; Norsk Sjømatcenter, Jørgen Borthen 95139288 borthen@sjomat.no.

Innbys til styringsgruppemøtene: Her deltok 2 nye oppdrettere og en fôreksperter:

- - Frode Vik, Alsaker Fjordbruk (frode.vik@fiordbruk. no)
- - Nicolai Arnesen Sandberg, prodsjef Firda Seafood (nicolai@firdasea.no)
- - Erlend Waatevik, daglig leder EWA consulting AS (ewaatevik@email.com )

Disse deltok på styringsgruppemøtene, direkte eller ved telefondeltakelse.

FHF deltok på møtene som observatør.

### 3. PROBLEMSTILLING OG FORMÅL

Hovedmålet til dette prosjektet har vært å minimalisere mekanisk/medikamentelle avlusning ved å bruke ernæringsrelatert strategi. Aller Aqua Norge AS har i samarbeid med Biofeed AS utviklet en mineralingrediens som har vist å gi direkte virkning på voksne lakselus i forsøk ved IndustriLABoratoriet AS (ILAB). I prosjektet skulle en ny generasjon av mineralingrediensen Biofeed Forte velges ut fra samme metode. Utvalgt mineralingrediens og grunnfôr skulle benyttes til å studere effekt på fiskens prestasjon, skinnhelse og lusepåslag i kontrollerte karforsøk ved ILAB. Samt, forsøk i merdanlegg med laks og regnbueørret for å verifisere resultat som er observert tidligere.

### 4. OPPNÅDDE RESULTATER, HOVEDFUNNDISKUSJON OG KONKLUSJON

- *Detaljert oversikt over oppnådde resultater*

*Forsøkene ved ILAB i kar:*

Basert på resultatene knyttet til fôringsforsøket og smitteforsøk med kopepoditter kan vi da trekke følgende slutninger:

1. Mineralinnholdet i helfisk gjenspeiler mineralinnholdet i fôret, særlig med tanke på jod
2. BF-fôr har signifikant effekt på antall lus på preadult stadiet i karforsøk.
3. BF-fôret fører til økt antall mukusceller i det ytre laget av fiskens epidermis etter lusesmitte
4. BF-fôret fører til signifikant økt tetthet av slimceller i skinnet og en signifikant høyere barrierestatus i skinnet ift C-dietten hos smittede laks i samle kar etter 45 dager på fôret. Begge diett-gruppene hadde en nedgang i slimcellestørrelse ift til start men cellene var signifikant mindre kun for C-dietten.
5. Volumet av slimceller i fortarmen (%) viste en signifikant nedgang og dermed en lavere barrierestatus fra start til dag 45 for begge fôrgruppene ( $p < 0,009$ ).
6. BF-fôret ga en trend til økning av slimcellenstørrelse ift Dag 0 i den respiratoriske del av gjellene (lameller) men dette var innenfor benchmarket mål for friske gjeller (Haddeland et al. In prep).

7. BF-fôret virket på gjelles filamentdel ved å gi større slimceller i høyere tetthet, noe som førte til en tendens mot økt barrierestatus ift Dag 0 ( $p=0,0645$ ) og ift C-dietten ( $p=0,0657$ ). BF fôret ga signifikant høyere slimcelletetthet i filament enn gjorde C-dietten ( $p=0,0407$ ).
8. BF- og kontrollfôret hadde ulik påvirkning på skinn og slimlaget til fisken etter lusesmitte i enkeltkar og samlekar. I enkeltkar viste kontroll-fôret laks en usignifikant høyere tetthet av slimceller i skinnen, og ingen forskjell mellom diettgruppene. I samlekar var det flere signifikante forskjeller: BF-fôret ga signifikant høyere barrierestatus, og tendens til høyere tetthet av omtrent like store celler (13 % vs 8,5 %;  $p=0,0812$ ) sammenlignet med kontroll-fôret fisk.
9. BF-fôret påvirket proteinuttrykket i mukusgelen, i hovedsak knyttet til metabolisme, cytoskjelettkomponenter og protein-turnover. BF-fôret ser ut til å endre forholdet mellom sukker og proteiner som er tilstede i mukusgelen.
10. BF-fôret påvirker transkripsjon av gener i skinn og gjelle, med størst effekten i gjelle.

Disse resultatene er ikke sammenliknbare med de kommersielle forsøkene, grunnet feildosering av jod som nevnt.

#### *Forsøkene i Fylkesnes/Vadheim*

På Bømlo ble det utført forsøk ved Soløy og Ospøy. En kunne ikke gjenskape de gode ørretresultatene fra tidligere. Grunnet pålegg om avlusning og behov for raske tiltak med renseskisk, var ikke de ytre forhold like mellom merdene. Det var således ikke mulig å henføre forskjeller i lusetall og antall behandlinger til de aktive ingredienser i fôret. Det ble innført strenge krav til oppdretter i prosjektet, for å få så like forhold som mulig i videre forsøk på FoU-tillatelsene.

I Vadheim fikk en det nevnte problem med jod, som gjør tolking av resultater vanskelig og delvis irrelevant. Det nevnes likevel at lusetelling viste tendenser til lavere lusepåslag av fastsittende og hunnlus hos fisk tildelt BF-fôr, mens eneste signifikante forskjellen i forsøket var et lavere lusepåslag av hunnlus på regnbueørret sammenlignet med laks.

- *Vurdering/drøfting av mulighetene for videre anvendelse av resultater fra prosjektet (implementering)*

Til tross for de nevnte problemer ble det observert interessante funn på fisk fôret med BF-fôr på lusetall og skinnets morfologi/fysiologi som diskuteres i rapporten. Disse funnene danner grunnlag for videre studier for å forstå effekter av fôringredienser som kan påvirke skinnhelse og redusere lusetall hos laks og regnbueørret. Også jodstudier vil bli fulgt opp.

## 5. HOVEDFUNN

- Biofeed Forte ingrediensen brukt i fôr til fisk inaktiverer voksen lakselus ved direkte kontakt med ingrediensen i en 4 % løsning i sjøvann (*in vitro* modell, Ilab).

- Kontrollert karforsøk med laks tildelt fôr med den feilproduserte Biofeed Forte ingrediensen inneholdt et ekstremt nivå av jod (1200 mg/kg), som gjenspeiles i fisken. Fôret ga en signifikant effekt på antall lus på preadult stadiet, sammenlignet med laks tildelt kontrollfôr med et jod-innhold på 7 mg/kg
- Effekten av fôret på antall preadulte lus kan ikke konkluderes til enten være en direkte respons av jod eller endringer av biologiske mekanismer (fiskeskinnets slimceller, slimsammensetning e.l.) grunnet det høye jod-innholdet
- Biofeed Forte varianten benyttet i kommersielle forsøk på laks og regnbueørret i 2018 med fôr-innhold av jod på 5,1 mg/kg gav ikke forskjell i lusetall sammenlignet med fisk tildelt Salmon Group fôr med et jod-innhold på 0,9 mg/kg.

## 6. LEVERANSER

Detaljert oversikt over leveranser i prosjekt i tilsagn: (kommentarer i rødt)

- 31.12.2017 Referat fra møte 1 i referansegruppen **OK**
- 01.06.2018 Referat fra møte 2 i referansegruppen **OK**
- 01.12.2018 Faglig delrapport fra ILAB **(er innarbeidet i Nofimas rapport)**
- 01.12.2018 Faglig delrapport fra Nofima **((vedlagt)**
- 01.12.2018 Kost/nytte-analyse fra Norsk Sjømatsenter **(vedlagt)**
- 15.12.2018 Referat fra møte 3 i referansegruppen **OK**
- 01.01.2019 Administrativ slutt rapport i tråd med FHF's retningslinjer **(vedlagt)**
- 01.01.2019 Faglig sluttrapport i tråd med FHF's retningslinjer **(vedlagt)**
- 01.01.2019 Faktaark: ørret/ laks **(er ikke utarbeidet ennå, grunnet forsinket framdrift som redegjort for)**
- 01.01.2019 Populærvitenskapelig artikkel (manus - hvis resultatene tilsier det] **(dessverre ikke kommet så langt, men se fagrapport Nofima for status)**

For øvrig:

André S Bøgevik, Thomas Larsson, Aleksei Krasnov, Carlo Lazado, Karin Pittman, Sturle Skeisvoll og Bjarne Hatlen. 2018. Redusert lusepåslag hos ørret fôret med mineraltilsetninger. Foredrag Havbruk 2018, 18. – 20. april 2018 (Oslo, Norge).

André S Bøgevik, Lene Sveen, Elisabeth Ytteborg, Christian René Karlsen, Carlo Lazado, Aleksei Krasnov, Sissel Albrektsen, Linda Andersen, Ole Myre, Grigory Merkin, Mearge Okubamichael og Karin Pittman. 2018. Resultatoppsummering FHF finansiert prosjekt 901458: Forebyggende ernæring mot lus på laks - forsøk og dokumentasjon på betydning av samvirkning mellom aktive tilsetninger og grunnfôr. Konfidensiell Nofima rapport K17/2019.

Aller Aqua Norway takker FHF for god støtte i et utfordrende prosjekt!