

The background of the entire page is a solid blue color with a white grid pattern. The grid lines are slightly curved and intersect to form a series of irregular, roughly rectangular shapes. The lines are thin and evenly spaced.

# ”Sats Marint” 2011

Poster Abstrakt

<b>OVERSIKT OVER POSTERE PÅ TORSKENETTVERKSKONFERANSEN 2011</b>	
1	Utviklingen av det spesifikke immunsystemet i Atlantisk kveite ( <i>Hippoglossus hippoglossus</i> L.); kunnskap gir grunnlag for optimalisering av vaksinerings og startfôrings regimer?
2	Feltutbrudd av francisellosis hos torsk; en studie.
3	"Francisella noatunensis formeres i torskens makrofager til tross for omfattende betennelsesreaksjon"
4	Smitteforsøk med torskelarver – undersøkelser av patogener og probionter
5	Etablering og karakterisering av en cellelinje fra Atlantisk torsk ( <i>Gadus morhua</i> L.)
6	Anriking av rotatorier med protein, taurin, arginin og fosfolipid
7	Effekt av startfôring med copepoder på fôringsatferd og stressrespons hos torskelarver ( <i>Gadus morhua</i> ).
8	Karoteinoider er beste vitamin A-kilde for torskelarver
9	Molekylære markører avslører hvordan vitamin A påvirker beinutvikling i torsk
10	Hvordan lage en ernæringsmessig balansert rotatorie?
11	Iodine nutrition and toxicology in cod larvae
12	Utviklingsstadier hos torskelarver
13	Frie fettsyrer dreper
14	Fettfordøyelse hos torskelarver
15	Effekten av vannkvalitet på vekst hos Atlantisk torsk ( <i>Gadus morhua</i> L.)
16	Effekt av levende kjøling på fysiologisk stress respons og filetkvalitet i oppdretts torsk og laks
17	Muscle development and growth of juvenile Atlantic cod ( <i>Gadus morhua</i> ) fed marine microalga as an alternative protein source
18	Embryonic development of ballan wrasse, <i>Labrus bergylta</i>
19	Francisella event in atlantic cod in Ireland
20	Growth performance og Atlantic cod ( <i>Gadus morhua</i> ) in Irish aquaculture systems
21	Growth performance of cod ( <i>Gadus morhua</i> ) larvae from wild caught celtic sea parents
22	Monitoring og maturation, spawning period and recovery of farmed atlantic cod ( <i>Gadus morhua</i> ) in a commercial farm on the west coast of Ireland
23	Torskens toleransegrense for utvidelse av svømmeblære
24	Natural zooplankton – live feed of the future ?
25	"Histological investigations of organs and tissues development of ballan wrasse larvae during ontogenesis.
26	Interaction in coastal waters: a roadmap to sustainable integration of aquaculture and fisheries

## Utviklingen av det spesifikke immunsystemet i Atlantisk kveite (*Hippoglossus hippoglossus* L.); kunnskap gir grunnlag for optimalisering av vaksinerings og startfôrings regimer?

Aina-Cathrine Øvergård<sup>1,2</sup>, Ingrid U. Fiksdal<sup>1</sup>, Audun H. Nerland<sup>1,2</sup>, Elin Sørhus<sup>1</sup> og Sonal Patel<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Institute of Marine Research, P.O. Box 1870, N-5817 Bergen, Norway

<sup>2</sup> The Gade Institute, University of Bergen, N-5021 Bergen, Norway

Under oppdrett klekkes marine larver i et miljø der de kan bli utsatt for en rekke patogener, og det er ofte observert høy dødelighet i tidlige stadier da immunsystemet ikke er ferdig utviklet. Dette understreker behovet for å etablere tilstrekkelige forebyggende tiltak som vaksinasjon og bruk av probiotika. Imidlertid vil immunisering før fisken er i stand til å gi en effektiv immunrespons kunne indusere toleranse. Siden det i oppdrett av kveite har blitt observert høy dødelighet under startfôringen og ved overgang til tørrfôr, var vi interessert i å studere utviklingen av lymfoide organer samt uttrykket av B- og T-celle markører under utviklingen. Dette for å kunne estimere hvor tidlig det var mulig å aktivere det spesifikke immunforsvaret og dermed vaksinere kveiteyngelen.

Det ble regelmessig tatt prøver av fertiliserte egg, larver og yngel opp til 159 dager etter klekking (dek). Alle de tre lymfoide organer, milt, fornyre og tymus, viste seg å være morfologisk godt utviklet i slutten av metamorfosen. Molekylærbiologiske analyser (real time RT-PCR og *in situ* hybridisering) viste at mRNA for IgM (B-celle markør) kunne påvises ved 66 dek og senere. Ved hjelp av immunhistokjemi ble tilstedeværelsen av IgM protein påvist både i nyre og milt ved 94 dek, mens i tymus ved 108 dek. Ved hjelp av *in situ* hybridisering kunne det påvises celler i tymus ved 87 dek som sannsynligvis var modne T-celler, mens gen som er viktig for tidlig utvikling av T-celler var uttrykt så tidlig som 42 dek. Også interessant var at, til tross for en generell trend der alle de undersøkte immunmarkørene viste en klar økning i tidlig metamorfosestadiet, ble de nedregulert rundt overgangen til tørrfôr.

Fra våre studier kan vi dermed konkludere med at kveites immunsystem trolig ikke er ferdig utviklet før i den siste delen av metamorfosen. Vaksinasjon av kveite larver før 94 dek vil derfor muligens kunne føre til toleranse istedenfor beskyttelse, og sannsynligvis vil optimal tid for vaksinerings være noe senere siden styrken på immunresponsen vil være avgjørende for tilstrekkelig beskyttelse. I tillegg bør fettsyresammensetningen i *Artemia* anrikningen undersøkes for å bedre kunne opprettholde immunstatusen sent i metamorfosen.

## Feltutbrudd av francisellosis hos torsk; en studie.

Mikkelsen, H., Seppola, M., Breiland, M.S.W, Bakkemo, K.R., Johansen, A., Bangera, R. og A. Mortensen

Nofima Marin, Postboks 6211, 9291 Tromsø

[helene.mikkelsen@nofima.no](mailto:helene.mikkelsen@nofima.no)

Utbrudd av francisellosis har vært påvist hos torsk ved Austevoll havbruksstasjon. Fisken var fra den nasjonale torskeavlprogrammet og det var ca 200 torskefamilier som hadde gått i sjø i 2 år. Dødeligheten i mærene hadde økt ved stigende sjøvannstemperatur og dødeligheten økte betraktelig etter en periode på en måned med temperatur over 15 °C. Vi undersøkte denne fisken for å studere sykdommen i et naturlig feltutbrudd. I oktober 2010 ble all fisk fra generasjon 2008 tatt opp fra mærene og de overlevende fiskene ble undersøkt for sykdomstegn for francisellosis. De fleste fiskene (95,5 %) hadde tydelige ytre kjennetegn på sykdommen og funnene ble bekreftet med granulomer i de

indre organene. Vi fant at det kun var 4,5 % av fisken som var tilsynelatende frisk, og de individene representerte 59 familier. Den friske fisken hadde ikke oppvekst av *F. noatunensis* fra hodenyre eller makrofager, de hadde færre makrofager i hodenyre og liten antistoff respons mot bakterien. Derimot hadde de syke fiskene (10 stk) oppvekst av bakteriene både i utstryk og i makrofagene. De hadde signifikant flere makrofager i hodenyre og mye høyere spesifikk antistoff respons. De friske fiskene har mest sannsynlig vært mer motstandsdyktig og dermed unngått infeksjon. Noen av de syke fiskene (3/10) hadde tegn på at sykdommen var på retur, med få bakterier i makrofagene og lav antistoff respons.

## "*Francisella noatunensis* formeres i torskens makrofager til tross for omfattende betennelsesreaksjon"

**Mona Cecilie Gjessing , Makoto Inami , Simon Weli , Terje Ellingsen , Knut Falk , Erling Olaf Koppang , Agnar Kvellestad**

Francisellose har blitt en stor utfordring for norsk torskeoppdrettsnæring. Sykdommen skyldes infeksjon med *Francisella noatunensis* og er i tillegg til torsk også påvist hos laks. En tidlig diagnose er viktig for å bekjempe sykdommen og målet med denne studien var å få mer kunnskap om de sekvensielle patologiske forandringene i tillegg til å belyse noen immunologiske aspekter. Fisk ble smittet med *Francisella noatunensis* og vevs- og celledynamikk i milten ble undersøkt over en periode på 60 dager. Små ansamlinger av hovedsakelig makrofager ble infiltrert av granulocytter som farget for enzymene peroksidase og lysozym. Granulocytene var også tilstedet i kontrollfisken, men migrerte mot ansamlingene av betennesceller i den smittede fisken. Økt antall celler som uttrykker det betennelses fremmende stoffet interferon- $\gamma$  ble påvist i den infiserte fisken og antall bakterier i makrofagene økte i løpet av studiet til tross for den uttalte vertsresponsen. Våre resultater viser dynamikken av ulike celletyper i betennelsesprosessene og tilstedeværelsen av granulocytter, sammen med makrofager, tilsier at pyogranulomatøs betennelse er en passende betegnelse for Francisellose hos torsk.

## *Smitteforsøk med torskelarver – undersøkelser av patogener og probionter*

**Kristian Dam, Sirill Lillebø, Nils Vestvik, Heidrun Wergeland, Øivind Bergh**

Universitetet i Bergen, Institutt for Biologi, Fiskeimmunologigruppen

Smittemodeller er nødvendige redskaper for en rekke formål i fiskehelseforskning. Våre modeller bruker plommeseckklarver, og gir oss muligheten til å studere interaksjoner mellom bakterier og immunforsvar hos de mest primitive livsstadiene hos torsk. Vi bruker bakterier (*Vibrio anguillarum* og *Francisella noatunensis*) som er transformert slik at de produserer proteiner som fluorescerer. Det gir oss muligheten til å studere opptak og prosessering av slike bakterier i hele torskelarver, og i leukocytter av torsk. Samtidig kan vi undersøke de komponentene av immunforsvaret som er virksomme hos så tidlige livsstadier. Vi bruker også probiotiske bakterier i slektene *Ruegeria*, *Phaeobacter* og *Pseudoalteromonas* – bakterier som kan ha en gunstig virkning på fiskens helse i sammenliknende smitteforsøk.

## *Etablering og karakterisering av en cellelinje fra Atlantisk torsk (*Gadus morhua* L.)*

**Ingvill Jensen, Kari Steiro, Marit Seppola, Øyvind Kileng, Saskia Mennen, Elin K. Sandaker, Ann-Inger Sommer**  
Nofima, Tromsø

E-post: [ingvill.jensen@nofima.no](mailto:ingvill.jensen@nofima.no)

Cellelinjer er celler som kan dyrkes i kultur under kontrollerte betingelser i laboratoriet, og som kan dele seg uendelig mange ganger. Slike cellelinjer kan lagres i nedfrosset tilstand, tines og benyttes i videre forskningsarbeid. Cellelinjer er nødvendige verktøy for forskning og sykdomsdiagnostikk, vaksineutvikling- og produksjon. Det er svært få cellelinjer fra marine kaldtvannsfisk og ingen tilgjengelige cellelinjer fra torsk, men gjennom dette prosjektet har vi etablert en cellelinje fra nyklekte torskelarver. Små vevsbitene fra torskelarver ble sådd ut i standard vekstmedium. Nye celler som vokste ut fra vevsbitene ble løsnet og overført til nye cellekulturflasker. Cellene ble bestrålt med UV-lys og fire måneder seinere observerte vi ny cellevekst. Videre kunne cellene overføres til en ny generasjon hver 2. – 3. uke. En rekke tilpasninger ble gjort underveis med hensyn på dyrkningstemperatur, dyrkningsmedium, tilsetning av serum og kondisjonert medium for å optimalisere videre vekst. Cellelinjen har fått navnet Atlantic cod larvae cells (ACL-celler) og er nå dyrket i 90 generasjoner. ACL - cellene har epitelcelle-lignende morfologi og vekststudier viser at optimal veksttemperatur er 15°C, men vi har cellelinjer som er tilpasset vekst ved henholdsvis 12 og 20°C også. Ingen eller liten vekst av ACL er observert ved 5 og 25°C. ACL-cellene dyrkes i Eagles minimal essential medium og cellevekst er serum-avhengig. Resultater som viser mottakelighet for virusinfeksjoner og genuttrykk etter immunstimulering av ACL-cellene vil bli presentert. I videre forskning benyttes ACL-cellene for å studere interaksjoner mellom patogener og torskens medfødte immunforsvar.

## *Anriking av rotatorier med protein, taurin, arginin og fosfolipid*

**S. Helland\*<sup>1</sup>, M. Oehme<sup>1</sup>, P. Ibieta<sup>2</sup>, K. Hamre<sup>3</sup>, I. Lein<sup>1</sup> and Y. Barr<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Nofima Marin AS, Sjølseng, N-6600 Sunndalsøra, Norge. e-mail: [synnove.helland@nofima.no](mailto:synnove.helland@nofima.no)

<sup>2</sup> AVS Chile, Av. Imperial 0655 Of. 3A, Puerto Varas, Chile

<sup>3</sup> National Institute of Nutrition and Seafood Research, PO box 2029 Nordnes, 5817 Bergen, Norge

### **Introduksjon**

Zooplankton er naturlig byttedyr for larver av marine kaldtvannsarter, og tidligere studier indikerer at disse gir bedre resultat med hensyn til overlevelse, vekst, normal utvikling av skjelett og pigmentering enn dyrkede rotatorier. Nivåene av protein og aminosyrene taurin og arginin og fosfolipider (PL) er lavere i rotatorier enn i villfanget zooplankton (vektbasert). I dette arbeidet har vi gjort forsøk hvor rotatorier har blitt anriket med disse næringsstoffene.

### **Materiale og metode**

Rotatorier ble anriket i 1.5 l flasker (3 gjentak/behandling) som var plassert i et vannbad med temperaturkontroll (23°C). Rotatoriekulturene ble tilført luft (>4 ppm O<sub>2</sub>), saliniteten var 22 promille, og rotatorietettheten 4 mill/l.

Forsøksdiettene besto av tomme eller fylte liposomer, emulsjoner eller partikler. Liposomene bestod av 75 % soyalecithin og 25 % LC40 (henholdsvis 200H-Lipoid og LC40-PhosphoTech) (se Barr og Helland 2007). Disse ble fylt med enten taurin, arginin eller hydrolysat. Emulsjoner av PhospoNorse (marint PL; MPL) og Epicuron 130 P-IP (vegetabilsk PL; VPL) og det mikroniserte proteinet (MicroNorse) ble blandet med sjøvann i en hurtigmikser før bruk. Rotatoriekulturene ble tilført 1 g/l av de ulike forsøksdiettene i 1 time.

De korttidsanrikede rotatorier ble analysert for innhold av totale og frie aminosyrer (HPLC), totalt lipidinnhold (Folchs metode), fettsyresammensetning (GC) og lipidklasser (HPTLC).

### **Resultat og diskusjon**

Nivået av protein (totale aminosyrer) økte med 9 % fra 48-52 % av tørrvekt (TV) etter korttidsanriking med mikronisert protein. Nivået av totale aminosyrer var fremdeles 4,5 % høyere enn utgangsverdien etter 15 timers lagring ved 6 °C. Bruk av proteinrikt hydrolysat ga tilsvarende stor økning i totalt aminosyreinnhold. Begge metodene gir en økning i totalt aminosyreinnhold i rotatorier som dekker minimumsbehovet for protein hos torskelarver.

Innholdet av aminosyren taurin i rotatoriene økte fra 0,2 % av TV til 1,8 % av TV. Etter 15 timers lagring ved 6°C var nivået 1% av TV. Nivået av taurin i villfanget zooplankton ligger mellom 1 og 1,7 % av TV. Taurin anses som essensiell for enkelte fiskearter.

Arginininnholdet i rotatoriene økte fra 3,2 til 5,2 % av TV etter korttidsanriking. Etter 15 timers lagring ved 6 °C var nivået 4,3 %. I villfanget zooplankton er innholdet av arginin 3,8-4,6 % av TV. Dette betyr at resultatene i våre forsøk ga nivåer av arginin på linje med det en finner i fôrorganismer som marine fiskelarver spiser i naturen.

Innholdet av fosfolipider (PL) i rotatoriene økte med 50 % (mg/g TV) avhengig av fosfolipidkilde. Fettsyresammensetningen i anrikingsmediet gjenspeilte seg i de korttidsanrike rotatoriene. Hos rotatorier anriket med MPL økte innholdet av DHA fra 4-12 % av de totale fettsyrene. Ved bruk av VPL økte innholdet av 18-2 n-6 fra 17-41% av totale fettsyrer.

### **Konklusjon**

- Resultatene viser at det er mulig å øke innholdet av protein i rotatorier (totalt aminosyreinnhold) ved bruk av hydrolysat eller mikronisert protein.
- Innholdet av aminosyrene taurin og arginin kan økes til samme nivå som i villfanget zooplankton.
- Innholdet av fosfolipider økte betydelig etter anriking, og sammensetningen i anrikingsmediet var reflektert i rotatoriene.
- Innholdet av næringsstoffene som ble brukt til å anrike rotatoriene var fortsatt betydelig høyere enn utgangspunktet etter 15 timers lagring ved 6°C.

### **Referanser**

**Barr, Y., Helland, S.** (2007) A simple method for mass production of liposomes, in particular large liposomes, suitable for delivery of free amino acids to filter feeding zooplankton. *J of liposome Research* 17: 79-88

**Acknowledgements;** Prosjektet ble finansiert av Norges Forskningsråd (NFR, 185006/S40).

## *Effekt av startfôring med copepoder på fôringsatferd og stressrespons hos torskelarver (*Gadus morhua*).*

Marit Holmvaag Hansen<sup>1</sup>, Trina Galloway<sup>2</sup>, Gunvor Øie<sup>2</sup> og Elin Kjorsvik<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Institutt for biologi, Senter for fiskeri og havbruk, Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU), 7491 Trondheim

<sup>2</sup>SINTEF Fiskeri og havbruk, 7465 Trondheim

Førkvaliteteten i startfôringsfasen er avgjørende for overlevelse, vekst og kvalitet hos torsk (*Gadus morhua*), og startfôringen er fortsatt ansett som den viktigste flaskehalsen i torskeoppdrett. Idag brukes stort sett rotatorier og *Artemia sp.* ved startfôring, men å oppfylle alle torskens næringsbehov ved bruk av disse har vært vanskelig, og deformiteter er et vanlig problem i oppdrettstorsk. Copepode-nauplier er torskelarvens naturlige byttedyr, og ser ut til å dekke alle dens næringsbehov. Målet for dette prosjektet var å kartlegge fôringsatferd og stressresponser som mulige kvalitetsindikatorer i torsk.

Torskelarvene ble delt inn i 4 ulike grupper, med 4 ulike fôringsregimer i perioden 3-28 dager etter klekking: **Gruppe 1**) Copepode nauplier (*Acartia tonsa*) hele perioden, **Gruppe 2**) Copepodenauplier i 7 dager, resten anrikede rotatorier, **Gruppe 3**) Rotatorier, dyrket på *Chlorella* og kortidsanriktet med Multigain **Gruppe 4**) Rotatorier uten kortidsanrikning. Fra dag 20-40 ble alle fôret med *Artemia* nauplier (anriktet med Multigain), og fra dag 36-60 ble alle gitt et kommersielt tørrfôr.

Fôringsatferd ble testet på dag 33, hvor larvene, ble fôret med *Artemia* nauplier.

Svømmeaktivitet (sekunder), orientering mot byttedyr (antall) og vellykkede angrep (antall) ble notert. På dag 37 og 59 etter klekking ble larvene testet for overlevelse etter håndterings stress: De ble tørrlagt i en h v i: 45 sekunder på dag 37 og 60 sekunder på dag 59. Dødeligheten ble notert i løpet av 24 timer.

Torskelarver startf ret kun med copepoder (Gruppe 1) hadde bedre vekst enn de andre gruppene allerede fra 8 dager etter klekking. Larvene i gruppe 1 og 2 hadde også høyere overlevelse etter håndterings stress enn de som ble f ret kun med rotatorier. Gruppe 4 hadde betydelig lavere overlevelse etter håndteringsstress enn alle de andre gruppene.

I f ringsatferdstesten hadde larver fra gruppe 1 flest vellykkede angrep, og de var mest aktive. Larver som var f ret med bare rotatorier (gruppe 3 og 4) m tte svømme mye mer for å fange hvert byttedyr enn larvene som hadde fått copepodenauplier (både gruppe 1 og 2).

## *Karoteinoider er beste vitamin A-kilde for torskelarver*

Mari Moren<sup>1</sup>, Gunvor Øye<sup>2</sup>, Ingrid Overrein<sup>2</sup>, Kai Kristoffer Lie<sup>1</sup>

<sup>1</sup>NIFES, Nordnesboder 2, 5006 Bergen

<sup>2</sup>SINTEF, Fiskeri og Havbruk AS, Brattørkaia 17c, 7010 Trondheim

Retinsyre er den aktive formen av vitamin A. Mer enn 500 gener reguleres av retinsyre. Flere av disse kan overstyre den normale utviklingen dersom de blir aktivert til feil tidspunkt eller i feil vev. Både for mye og for lite retinsyre gir deformiteter i alle undersøkte dyrearter. Derfor reguleres retinsyreniv et svært nøye. Flere av de enzymene som er med på å lage eller bryte ned retinsyre blir regulert av retinsyre selv. De enzymene som bryter retinsyre ned, blir oppregulert av retinsyre mens de enzymene som danner retinsyre blir nedregulert. Bildet blir omvendt når det trengs mer retinsyre. I larvefasen vil torsk ha tilgang til retinsyre via karotenoider. Karotenoider tas opp, kløyves og blir til retinaldehyd. Deretter blir retinaldehyd omdannet til retinsyre. Vi har vist at det er de enzymene som

kløyver karotenoidene, kaldt beta-carotene 15, 15'-monooxygenase og beta-carotene 9, 10'-dioxygenase, som lar seg påvirke mest av retinsyre og av fôrets innhold av karotenoider. Dersom levendefôr anrikes med vitamin A, er det stort sett i form av retinyl-palmitat eller retinyl-acetat. Når det kommer i tarmen, blir det omdannet til retinol. Denne formen kan enten sendes til lagring eller så kan det bli til retinaldehyd og videre til retinsyre. Dersom det er tilstrekkelig tilgang av vitamin A i fôret, skal overskuddet av retinol bli omdannet til retinyl-ester og lagret i spesielle celler i leveren.

Ut fra våre resultater ser det ut som om larvene best regulerer retinsyrenivået ved å regulere hastigheten på omdanning av karotenoider og ikke omdanning av retinaldehyd eller nedbryting av retinsyre. Det kan bety at anrikning av levendefôr med vitamin A forstyrrer denne reguleringen. En forstyrret retinsyre-regulering vil gi unormal genregulering og det vil igjen gi feilutvikling av torsken. Vår anbefaling er å holde vitamin A-nivået i levendefôr-anrikninger lavt for å unngå dette.

## *Molekylære markører avslører hvordan vitamin A påvirker beinutvikling i torsk*

**Kai K. Lie\* & Mari Moren**

Nasjonalt institutt for ernærings- og sjømatforskning (NIFES), Nordnesboder 1-2, N-5005 Bergen, Norway,

\*Contact: kai.lie@nifes.no

I forbindelse med et større prosjekt som skal kartlegge betydningen av næringsstoffer på beinutvikling i torsk har vi utviklet en rekke molekylære markører som kan hjelpe oss å si noe om mineraliseringsstatus i torsk. Bein er et plastisk vev hvor dannelse og nedbryting skjer under hele fiskens livsløp og er en naturlig del av homeostasen. Disse prosessene inngår i en strengt regulert balanse mellom celler som bryter ned (osteoclaster) og celler som danner vev (osteoblaster). En forskyvning i forholdet mellom nedbryting og nydannelse vil ha uheldige effekter på videre utvikling av skjelettsystemet, særlig i larve- og yngelfasen.

Forsøk på beinvevstransplantater i kultur har vist at retinsyre, den aktive formen av vitamin A, øker osteoblastaktiviteten mens osteoclastaktiviteten hemmes. Dette vises som økt og redusert uttrykk av gener involvert i henholdsvis oppbygging og nedbryting av bein. Selv om slike forandringer i prinsippet fører til netto økning av beinmasse, kan en forrykning av balansen mellom oppbygging og nedbryting føre til ukontrollert beinvekst og deformiteter. Hemming av osteoclastaktivitet er motsatt av hva som tidligere er vist for pattedyr, men kan forklare en del av de sammenvoksningene man har sett på fisk ved forhøyede nivåer av vitamin A.

I forsøket med beinvevstransplantatene minsket ratioen mellom RANKL og OPG. Denne ratioen styrer både modning av osteoclaster og transkripsjonen av proteaser som bryter ned bein. Dette er med på å forklare noen av mekanismene som ligger bak retinsyre sin negative effekt på osteoclastaktiviteten. Resultatene viser at osteoclast aktiviteten nødvendigvis ikke er styrt direkte av retinsyre, men også av OPG/RANKL/RANK-systemet og kommunikasjon med osteoblaster.



## Hvordan lage en ernæringsmessig balansert rotatorie?

**Kristin Hamre**

NIFES, Postboks 2029, 5817 Bergen. [kha@nifes.no](mailto:kha@nifes.no)

Siden man bare i begrenset grad kjenner ernæringsbehovene hos marine fiskelarver, har vi brukt det naturlige føret copepoder som mal og definert dyrknings og anriknings betingelser som gir rotatoreier som er ernæringsmessig mest mulig like copepoder.

### **Langtidsanrikning**

Ved å bruke dyrkningsdietter som er rike på *B-vitaminer* får man rotatorier som også har høyt nivå av disse vannløselige vitaminene. Eksempler på slike dietter er gjær og Chlorella. Det fins kanskje også andre dyrkningsdietter som tilfredsstiller dette kravet, med dette er dem vi har analysert. Analysene er gjort både på diettene og på rotatoriene dyrket på dem.

*Fettsyresammensetningen* kan man også påvirke gjennom dyrkning. Hvis man bruker en syntetisk olje, f.eks TG5020 fra EPAX som inneholder 50% DHA og 20% EPA, kan man lett oppnå 20% n-3 fettsyrer i rotatoriene, som ligger i nedre område for copepoder. Når man langtidsanriker med n-3 fettsyrer vil disse også gå inn i membranlipidet, dvs rotatoriens eget phospholipid. N-3 fettsyrenivået oppnådd gjennom dyrkningsfasen holder seg høyt gjennom anrikningen dersom man ikke bruker høye nivåer av annet fett.

### **Korttidsanrikning**

*Spormineraler*, vitamin C og de fettløselige *vitaminene* får man inn gjennom korttidsanrikning. For spormineralene (Se, I, Cu, Mn, Zn), vitamin C, A og E har vi gjort forsøk slik at vi vet sammenhengen mellom konsentrasjonen i anrikningsføret og rotatoriene. For makromineralene (Ca Mg, P), vitamin D og K har vi ennå ikke denne sammenhengen. Hovedproblemet her er at vi ikke helt vet behovene og at behovene kan være forskjellig avhengig av hvilken form vitaminet eller mineralet foreligger i. (for eksempel: bør vitamin A gis som astaxanthin og er rotatorier anriket til copepodenivå med jod toksisk for torskelarver?)

Mange rotatoriestammer inneholder 36-38% *protein* og våre forsøk viser at 40% protein er minimumsbehovet for vekst hos torsk fra 0,2g. Copepoder inneholder gjerne 60-70% protein, men det er kanskje tilstrekkelig å øke proteinnivået til over minimumsbehovet. Man kan ikke vevs-anrike rotatorier med protein, bare fylle magen. Siden magevolumet er begrenset er det viktig at mesteparten av anrikningsdietten består av protein. Vi har brukt en diett med 65% protein og klart å øke proteininnholdet i rotatoriene fra 38 til 41%. Eksempler på anrikningsdietter med høyt protein er Origreen og mikronisert fiskemel. En høy andel protein i anrikningsdietten betyr at man bruker *lite fett* og får en mager rotatorie, noe som fører til at en større andel av fett i rotatorien er knyttet til dyrets membraner og foreligger som *phospholipid*.

Posteren er basert på kunnskap fremkommet i ulike forskningsprosjekter: NFR 185006/S40 (2008-2010) Nutrient requirements in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae. NFR 176817/I10 UiB-pilot (2006-2007) Kompetansebasert Havbruk. NFR 14768/120 (2003-2005) Efficient cod juvenile production. Samarbeidspartnere: Havforskningsinstituttet, Nofima Marin, SINTEF, Skretting, INVE, Alltech, Marine Harvest Cod, Sagafjord Seafarm, Havlandet Marin Yngel.

## *Iodine nutrition and toxicology in cod larvae*

**S. Penglase<sup>1</sup>, T. Harboe<sup>2</sup>, Ø. Sæle<sup>1</sup>, A. Nordgreen<sup>1\*</sup> and K. Hamre<sup>1</sup>**

1. National Institute of Nutrition and Seafood Research (NIFES), PO Box 2029, NO-5817 Bergen, Norway

2. Institute of Marine Research, Austevoll Research Station, NO-5392 Storebø, Norway

\* Present address; Nofima Ingrediens, Kjerreidviken 16, NO-5141 Fyllingsdalen, Norway

Iodine is an essential trace element required in the thyroid follicles for the production of the thyroid hormones, triiodothyronine (T<sub>3</sub>) and thyroxine (T<sub>4</sub>). Commercially produced Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) larvae are fed rotifers which can contain over 500 fold less iodine than their natural diet which consists primarily of copepods. Previous studies have identified iodine deficiencies in the larvae of Senegalese sole (*Solea Senegalensis*) reared in recirculation systems, where the confounding effects of low rotifer/*Artemia* iodine content, low water exchange rates and the use of ozone may have limited the total level of bioavailable iodine (Ribeiro *et al.*, 2009). Iodine nutrition in cod larvae has been investigated previously (Penglase *et al.*, under review) but failed to take into account the rapid leaching of iodine from rotifers post enrichment observed by Nordgreen *et al.* (manuscript), bringing into question if rotifers delivered increased levels of iodine to cod larvae. In this study, rotifers were enriched with iodine using aqueously dissolved sodium iodide (NaI), and the effects of feeding cod larvae with rotifer diets from 4 to 30 dph containing intermediate (26 mg I kg<sup>-1</sup> dry weight; MI+rotifers) or copepod (129 mg I kg<sup>-1</sup> DW; HI+rotifers) levels of iodine was investigated and compared to cod larvae fed control rotifers (0.6 mg I kg<sup>-1</sup> DW). To account for rapid iodine leaching, rotifers were either fed directly after enrichment or stored in water containing NaI to maintain iodine levels until feeding.

There were few differences in the measured parameters between larval groups fed control or MI+rotifers except in whole body iodine concentration. Cod larvae fed MI+ or HI+rotifers had whole body iodine concentrations an average of 3 or 7 fold higher, respectively, than controls in the period between 9 and 30 dph. The larval group fed HI+rotifers exhibited increased colloid to epithelium ratios in the thyroid follicles as well as a visual trend of decreased lengthwise growth compared to control and MI+rotifer fed groups. The thyroid follicle morphology in the HI+rotifer fed group suggests the formation of ‘colloid goitre’, a condition resulting from excessive iodine intake. Along with the visual decrease in growth, the data indicate that iodine induced toxicity occurred in the HI+rotifer group even though whole body iodine concentrations were below those found previously in copepod fed cod larvae. The results show that increased iodine can be successfully delivered to cod larvae through rotifers enriched with NaI. The data presents one of the first observations of dietary induced iodine toxicity in fish, and illustrates that iodine toxicity may be determined to a greater extent by bioavailability and nutrient interactions than by total body iodine concentrations. The data also suggests that rotifers with 0.6 mg iodine kg<sup>-1</sup> DW in combination with a continuous exchange of rearing water, and hence replenishment of dissolved iodine, is sufficient to meet the iodine requirements of cod larvae. However under conditions of limited water exchange and/or in recirculation systems, iodine supplementation of rotifers may still be necessary.

## *Utviklingsstadier hos torskelarver*

**Øystein Sæle<sup>1</sup> og Trine Haugen<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>: National Institute of Nutrition and Seafood Research, P.O. Box. 2029 Nordnes - 5817 Bergen - Norway

<sup>2</sup>: Institute of Marine Research, Austevoll Research Station, 5392 Storebø, Norway.

\*: Corresponding author, [Oyse@nifes.no](mailto:Oyse@nifes.no)

Til studier av marine larver er det vanlig å beskrive larvene ved en gitt alder i dager etter klekking. Vi har tidligere vist at alder ikke gir gode nok kriterier for å beskrive en fiskelarves fysiologiske utvikling, sammenlignet med forskjellige størrelses mål som lengde og høyde (buk til rygg) (Sæle et al., 2004; Sæle and Pittman, 2010). Vi hadde derfor som mål å beskrive utviklingsstadier hos Atlantisk torsk fra startforing og frem til juvenile stadier. Disse stadiene vil kunne redusere variasjonen i analyser av torskelarver da det er vist at flere utviklingsstadier vil finnes i samme gruppe ved en gitt alder (Sæle og Pittman, 2010). Sekvensen av kranial forbeining er i stor grad felles for de fleste fiskearter undersøkt (Sæle og Pittman, 2010), noe som indikerer et bevart utviklingsmessig trekk. Sæle et al. (2004) brukte kranial forbeining i Atlantisk kveite som kriterier for å dele inn larveutviklingen i stadier. Samme system er bruk her for å dele torskens larveutvikling inn i stadier. Torskelarver er farget med Alizarin rød som farger mineralisert bein rødt/rosa. Hvert enkelt bein er gitt et poeng fra 1 til 3 basert graden av mineralisering og disse poengene er summert opp for hvert individ. Stadieinndelingen er deretter basert på økninger i poengsummen. Dette systemet resulterte i 6 utviklingsstadier fra startforing til larvene er ca. 30 (mm) standard lengde. Videre arbeide vil vise hvordan ernæring og temperatur vil påvirke relasjonen mellom stadier og størrelser.

Sæle, Ø., Pittman, K., 2010. Looking closer at the determining of a phenotype? Compare by stages or size, not age. *J. Appl. Ichthyol.* 26, 294–297.

Sæle, Ø., Solbakken, J.S., Watanabe, K., Hamre, K., Power, D., Pittman, K., 2004. Staging of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) from first feeding through metamorphosis, including cranial ossification independent of eye migration. *Aquaculture.* 239, 445-465.

## *Frie fettsyrer dreper*

**Øystein Sæle, Andreas Nordgreen, Pål A. Olsvik og Kristin Hamre**

National Institute of Nutrition and Seafood Research, P.O. Box. 2029 Nordnes - 5817 Bergen - Norway

\*: Corresponding author, [Oyse@nifes.no](mailto:Oyse@nifes.no)

For fiskelarver er det viktig at en fraksjon av proteinet er prehydrolysert. Dette skyldes at systemet for proteinfordøyelse ikke er ferdig utviklet. Lipasene som hydrolyserer lipider i tarmen er uttrykt tidlig i larve stadiene, men i veldig lavt i forhold til i juvenil torsk. Vi har tidligere vist at kveitelarver har en raskere absorpsjon av prefordøyd triacylglyserol (TAG) i form av monoacylglyserol (MAG) enn intakt TAG. Diacylglyserol (DAG) og fosfolipid (PL) ble absorbert senere enn MAG, men raskere enn TAG.

Fra pattedyrstudier vet vi at høye doser frie fettsyrer (FFS) i dietten kan skade tarmepitelet, men dette blir raskt reparert. Kvietys et al., (1991) foreslo at denne lytiske effekten av FFS med påfølgende reparasjon var en del av normalt fettopptak i tarmen.

Vi foret torskelarver fra 30 til 60 dager etter klekking (dek) seks fôr med forskjellig grad av lipid hydrolyse for å undersøke langtidseffekten av hydrolysert fett i kosten. Førene ga ingen forskjeller i vekst, men dødeligheten i prøveenheter økte med økt mengde FFS i forene.

En rekke parametre ble analysert for å se om økt oksidativt stress kunne være skyld i den økte dødeligheten. Det viste seg å ikke være tilfellet. Derimot fant vi store skader på tarmepitelet hos fisk foret med høye nivå av FFS.

Vi har her vist at FFS er toksisk i fiskelarver. Selv lave nivåer av FFS i foret vil over tid føre til økt dødelighet som sannsynligvis skyldes den emulgerende effekt på enterocytene og at tarmepitelet ikke repareres i takt med skadene som oppstår

## Fettdøyelse hos torskelarver

Øystein Sæle, Andreas Nordgreen, Pål A. Olsvik and Kristin Hamre

<sup>1</sup>: National Institute of Nutrition and Seafood Research, P.O. Box. 2029 Nordnes - 5817 Bergen - Norway

\*: Corresponding author, [Oyse@nifes.no](mailto:Oyse@nifes.no)

Fettdøyelse hos voksen fisk er stort sett som hos pattedyr, med unntak av den aktive lipasen som fordøyer nøytralt fett. Hos pattedyr er det pankreatisk lipase sammen med co-lipase som er aktiv, mens denne ikke finnes hos fisk, der det er galleaktivert lipase (BAL) som gjør jobben. Fosfolipider fordøyes av fosfolipase A2 (PLA<sub>2</sub>).

Som mennesker så starter fiskelarver å spise før fordøyelsessystemet er ferdig utviklet. Nøytral lipase- og fosfolipaseaktivitet målt i homogenat av hele torskelarver er relativt høy ved startforing for deretter å synke senere i larvestadiene. Denne senkningen sammenfaller med tidspunktet der larvene forandrer diett fra levendefôr til partikler. Mye av denne forskjellen kan forklares med at aktiviteten av nøytral lipase i rotatorer er ti ganger så høy som i hele larver. En larve må spise 5 % sin egen kroppsvekt med rotatorer for å doble den totale enzymatiske aktiviteten målt i en hel larve.

Ser vi på genuttrykket av BAL og PLA<sub>2</sub> så er det stabilt lavt fra klekking til 15 mm standard lengde (48 DPH) for deretter å øke. For PLA<sub>2</sub> korrelerer genuttrykket med proteinmengden. Vi ser altså at larvens egenproduksjon av BAL og PLA<sub>2</sub> ikke stemmer overens med enzymaktivitet målt i hele dyret. Dette skyldes antagelig at metodene for aktivitetsmålinger ikke diskriminerer mellom lipaser i fordøyelseskanalen og lipaser i andre organer. I en larve på ~15 (mm) SL vil kun 29 % av fosfolipase aktiviteten i hele dyret komme fra fordøyelseskanalen. For nøytral lipase er det samme forholdet 31 %.

Torskelarver på ~15 (mm) SL har en høy kapasitet for absorpsjon og metabolisme av fett. 100 % av fett i et fôr med 15 % fett ble absorbert innen 10 timer, når foropptaket var mindre enn 4,3 % av larvenes tørrvekt. Det samme studiet viste at fett som var ferdig fordøyd ikke ble absorbert raskere enn intakt fett. Dette viser at disse torskelarvene hadde høy kapasitet for prosessering av fett i foret, selv om produksjonen av lipaser når toppen først når larvene er ~ 40 mm.

Sammensetningen av fett i larvenes kropp gjenspeilte i stor grad sammensetningen i fôret. Ut fra disse studiene har vi derfor formulert en hypotese om at fett blir absorbert direkte uten forutgående fordøyelse og med mindre prosessering enn hos voksen fisk, noe som er vist hos zebrafisklarver. Denne hypotesen kan også brukes til å forklare at det ikke var samsvar mellom genuttrykket og aktiviteten til lipasene gjennom larveutviklingen.

## *Effekten av vannkvalitet på vekst hos Atlantisk torsk (*Gadus morhua* L.)*

**Thorarensen, H., Imsland, A.K., Gunnarsson, S., Gústavsson, A., Arnarson, I., Árnason, J., Steinarsson, A., Björnsdóttir, R.**

Effekten av vannkvalitet på vekst hos torsk ble undersøkt i to forsøk. I det ene ble juvenil torsk (startvekt, 21.9 g) oppdrettet ved 5 ulike oksygenmetninger (65 %, 81 %, 103 %, 121 % og 150 %) i 98 dager. Vekst hos fisk ved 65 og 81 % metning var signifikant lavere sammenliknet med de resterende gruppene. Fisk oppdrettet ved 150 % metning var størst ved forsøkslutt. Resultatene indikerer at det trengs minst 100 % oksygenmetning for å opprettholde maksimal vekst hos juvenil torsk.

I det andre forsøket ble juvenil torsk (startvekt 156 g) eksponert for CO<sub>2</sub> (10 mg·L<sup>-1</sup>) og NH<sub>3</sub> (0.06 mg·L<sup>-1</sup> NH<sub>3</sub>-N) både enkeltvis og i samspill (CO<sub>2</sub> x NH<sub>3</sub>). I tillegg var det en kontrollgruppe uten tilsatt CO<sub>2</sub> eller NH<sub>3</sub>. Vekst hos gruppene med enkel eksponering (enten CO<sub>2</sub> eller NH<sub>3</sub>) avvek ikke fra kontrollgruppen, der 22 % vektøkning ble observert i løpet av 41 dagers eksponeringstid. Imidlertid ble ingen vektøkning observert hos interaksjonsgruppen. Resultatene indikerer at det finnes en kraftig veksthemmende interaksjonseffekt av CO<sub>2</sub> og NH<sub>3</sub> som vil kunne føre til stort veksttap hos torsk i resirkuleringssystemer.

## *Effekt av levende kjøling på fysiologisk stress respons og filetkvalitet i oppdretts torsk og laks*

**Marit Bjørnevik, Grete Lysfjord og Robert Eliassen.**

Fakultet for biovitenskap og akvakultur, Universitet i Nordland, NO-8049 Bodø.

I dette prosjektet har vi studert hvordan levende kjøling i forbindelse med slakting påvirker stress respons og filetkvalitet i torsk og laks. Torsk (*Gadus morhua*) (N=64, 2.2 kg) og laks (*Salmo salar*) (N=80, 1.4 kg), akklimatisert i 4 uker til 14°C og 12°C, ble utsatt for enten hurtig eller sakte kjøling før slakting. I den hurtig kjølte gruppen ble fisk direkte overført til et kar (0,5m<sup>3</sup>) med 1°C sjøvann i en time. Den sakte kjølte gruppen ble overført til et kar med normal temperatur, der temperaturen sank med 1.5°C pr. time inntil 1°C ble nådd. I kontrollgruppen ble fisken overført til et kar uten temperaturendringer. Fisken ble bedøvd og det ble umiddelbart tatt ut prøver til analyse av pH i hel blod, plasma kortisol, muskel temperatur and muskel pH. Filet spalting, tekstur skjær kraft og farge ble evaluert etter 4 dagers lagring på is. Den sakte kjølte gruppen hadde høyere plasma kortisol nivå enn hurtig kjølt. Trolig skyldes dette lenger opphold i karet mer enn en effekt av sakte kjøling. Farten på nedkjølingen hadde ingen signifikant effekt på skjærkraft eller filet spalting i torsk eller laks. Resultatene bør ha interesse for akvakulturindustrien da Mattilsynet har foreslått å forby hurtig levende kjøling av oppdrettsfisk.

*Muscle development and growth of juvenile Atlantic cod  
(Gadus morhua) fed marine microalga as an alternative  
protein source*

Biswas Bajgai, Ørjan Hagen, Christel Solberg, Ellen Sirnes, Gabriel DeScheemaker, Ian Archibald, Mark Huntley and Kiron Viswanath  
University of Norland & Cellana LLC.