

***Evaluering av tidligere forskning  
på effekten av ulike mineralnivå i  
fôr på utviklingen av deformiteter***  
**FHF prosjekt nr 900661**

Grete Bæverfjord, Per Gunnar Fjelldal, Sissel Albrektsen, Bjarne Hatlen, Vegard Denstadli, Elisabeth Ytteborg, Harald Takle, Eric-Jan Lock, Marc H.G Berntssen, Anne-Kathrine Lundebye, Torbjørn Åsgård og Rune Waagbø

Nofima, NIFES, APC og HI

- Oppdrag fra FHF
- Leveranser
  - Rapport i form av reviewartikkel som skal publiseres i Aquaculture Nutrition
  - Oppsummering og anbefalinger for videre forskning til FHF
  - Faktaark/populærvitenskapelig framstilling
- Samarbeid mellom
  - Nofima
  - NIFES
  - Havforskningsinstituttet
  - APC invitert til å bidra i forhold til planteråvarer
- Referansegruppe
  - Skretting, Biomar, Ewos, Lerøy, Salmar, Marine Harvest

# Status, deformiteter

- Problemet er ikke stort og dramatisk
- Problemet er vedvarende, alltid tilstede på et eller annet nivå
- Noen få alvorlige 'case'?
  
- Flere kjente årsaksfaktorer balanserer på kanten
  - Drift i produksjonstemperaturer
    - Fare for temperaturinduserte misdannelser OG større utfordringer mht veksthastighet og mineraler
  - Store endringer i forsammensetning i løpet av kort tid
    - Hvordan sikre tilstrekkelig mineralisering
  
- Observasjoner av fisk med subklinisk mineralmangel er ikke uvanlig

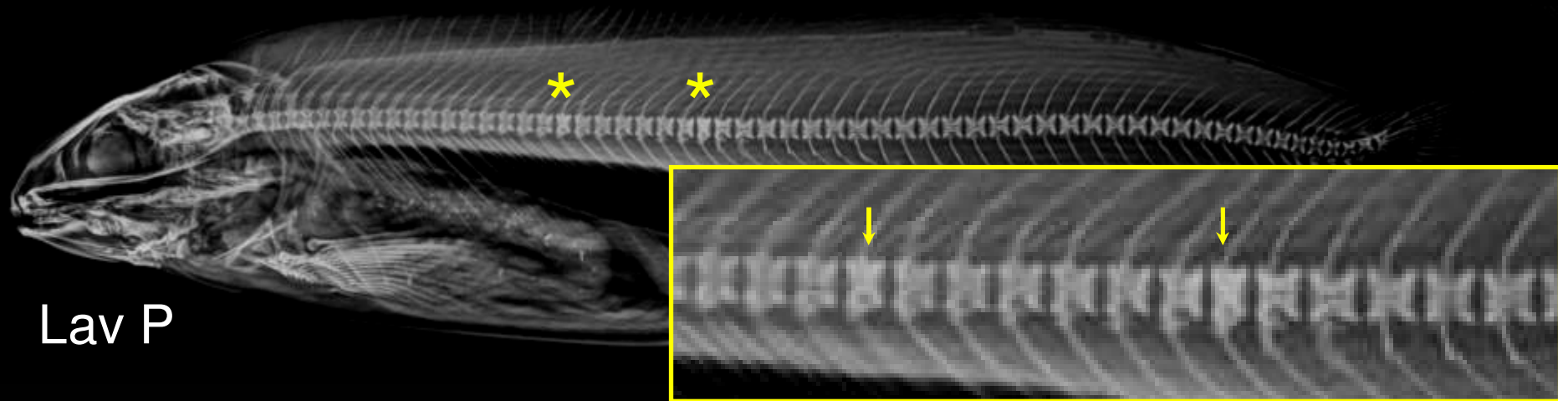
# Hvem er ”stakeholders” i arbeidet?

- Fôrindustrien
- Fisken!
- Produksjonsselskapene
- Forskningsmiljøene
- Forbrukerne
  
- Næringa som samfunnsaktør
- Allmenheten

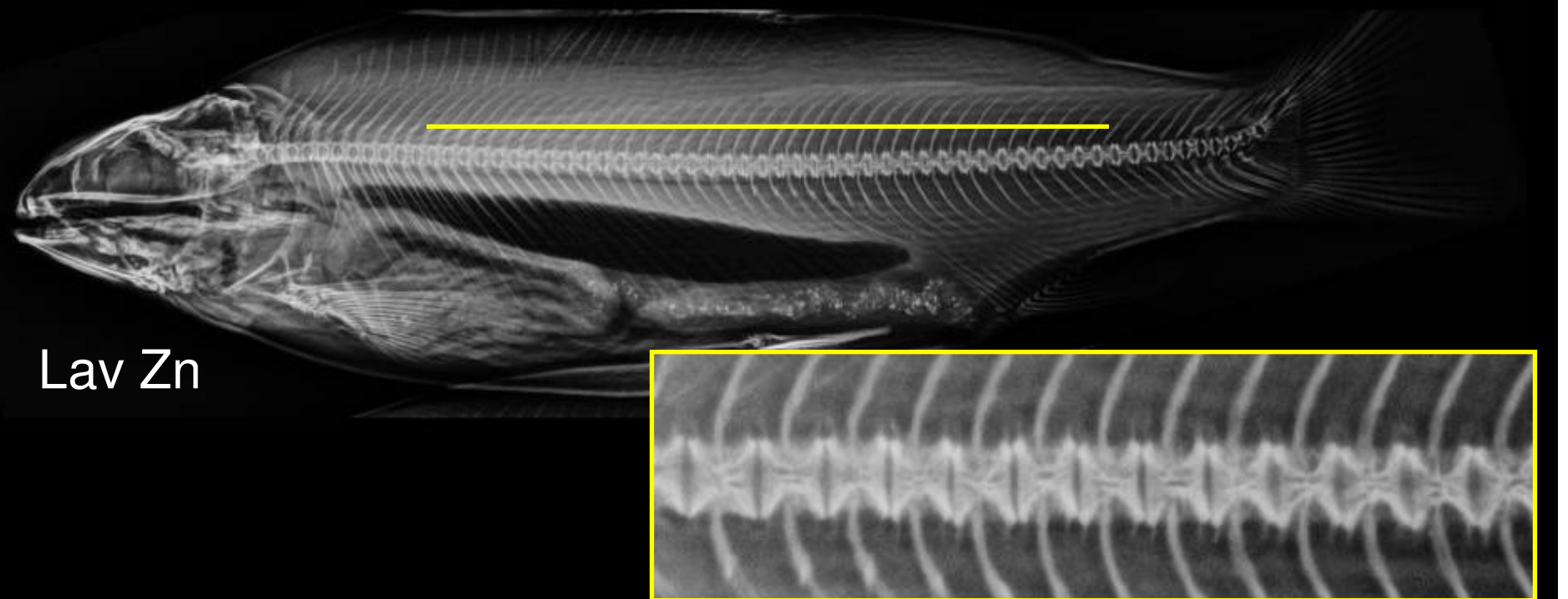
# Sammenhengen mellom mineralmangel og skjelettdeformiteter

- Det er vist en sikker sammenheng mellom lave nivå av P i for, lave nivå av P i fisk, og utvikling av skjelettdeformiteter i flere store uavhengige forsøk
- Det er vist en sammenheng mellom lave nivå av Zn i fôr, lave nivå av Zn i fisk og skjelettdeformiteter
- Symptomer på subklinisk P-mangel er påvist og påvises stadig i fisk som har fått vanlig fôr
- Det er vist stor variasjon i P-innhold i fisk i grupper som har fått vanlig fôr, med en del bekymringsverdige lave verdier
- Det er vist gjennomgående lave nivå av Zn i fiskeprøver

# Effekter av lav P og lav Zn i fôr til laks



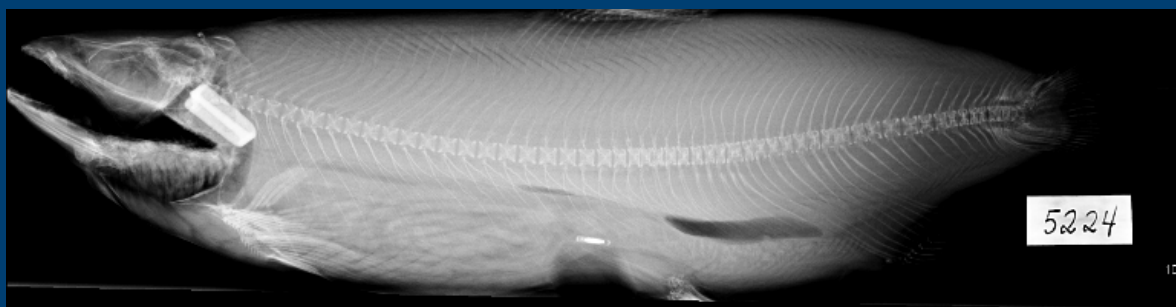
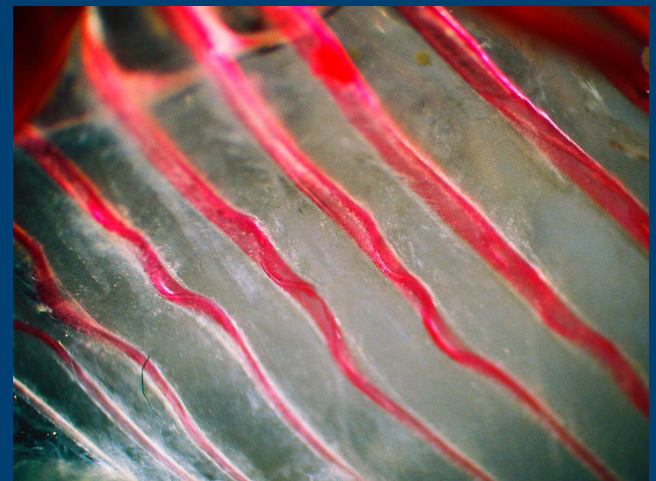
Lav P



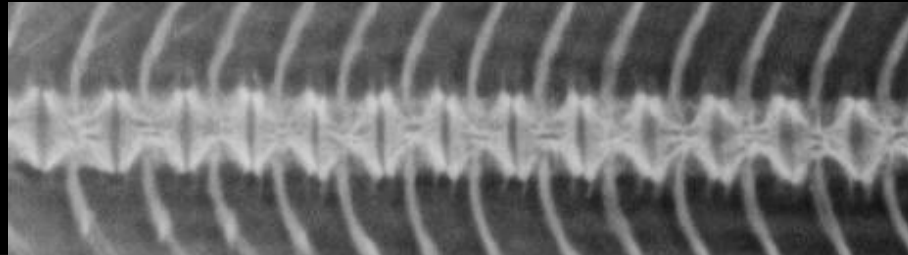
Lav Zn



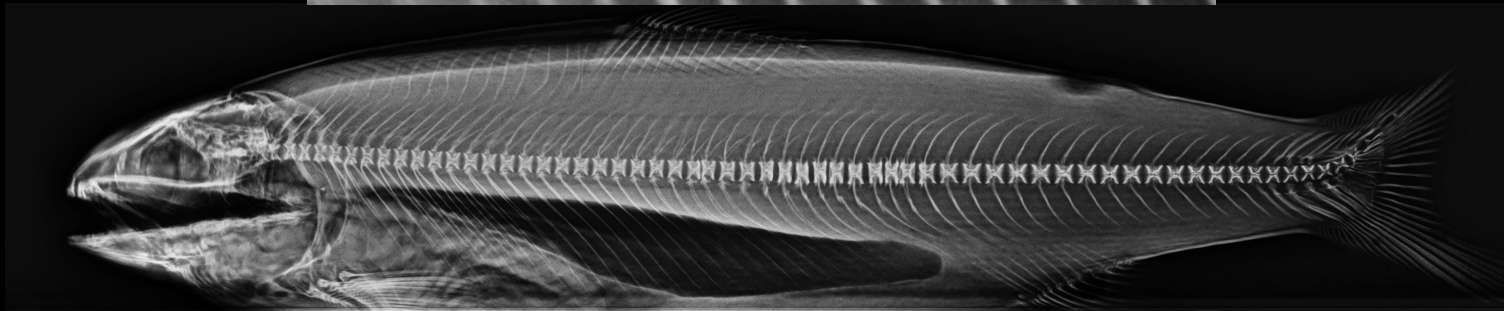
# Langtidseffekter av lav P og lav Zn hos liten fisk



# Sinkmangelskader i ryggvirvler - utvikling over tid



30g



Smolt



2,2 kg



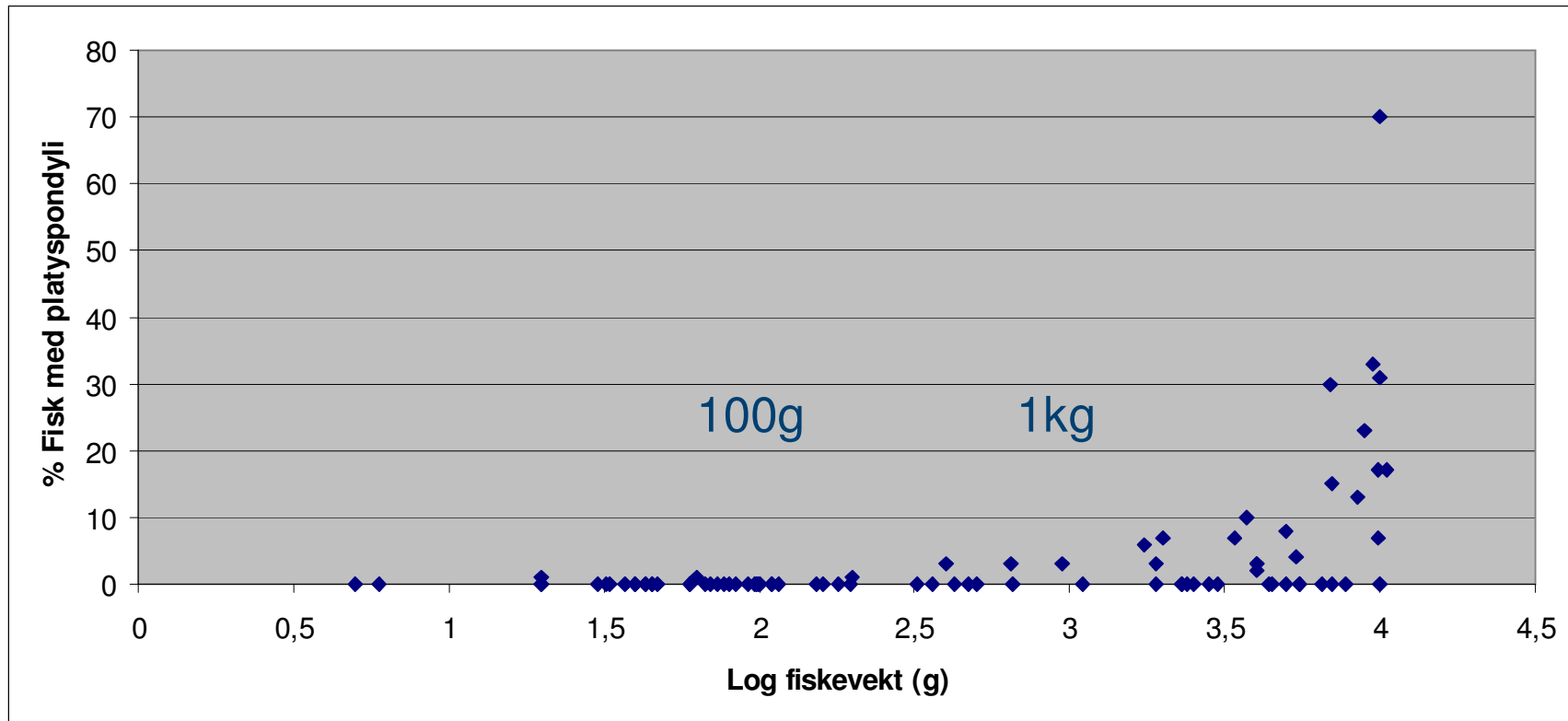
# Sammenhengen mellom mineralmangel og deformiteter

- Sammenhengen er dokumentert for lav P og lav Zn
- P er mest aktuell, og det elementet som er mest undersøkt
- Andre elementer kan være aktuelle
  - Lite (ingen) nyere forskning
  - Lite som tyder på stor betydning i industrisammenheng
- Forskning siste 10 år har først og fremst vært årsaksrettet, dvs. for å vise sammenhenger, og i liten grad utformet med tanke på å definere behov
- Normal utvikling og vekst av ryggvirvler har vært forskningsfokus i flere miljøer
- Det har vært mest fokus på tidlig utvikling i studier av det normale

# Omfang av problemet

Komprimerte virvler (platyspondyli) vs. fiskestørrelse

Røntgen av 87 fiskegrupper, 2006-2009



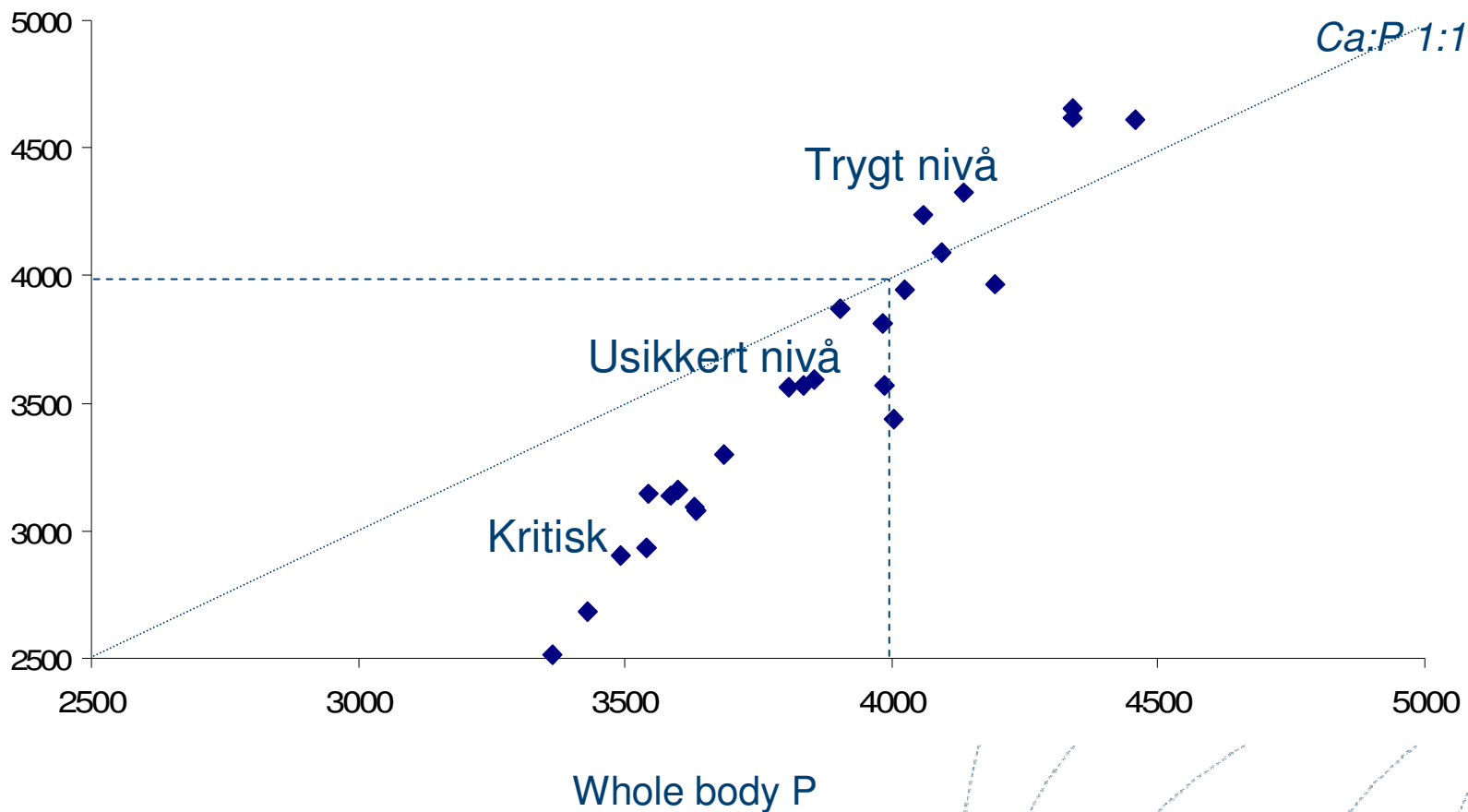
Data fra SalmoBreed



# Kalsium og fosfor i laks fra kommersiell produksjon

Samleprøver á 10 fisk, fiskestørrelse 20-60g, 2006-08

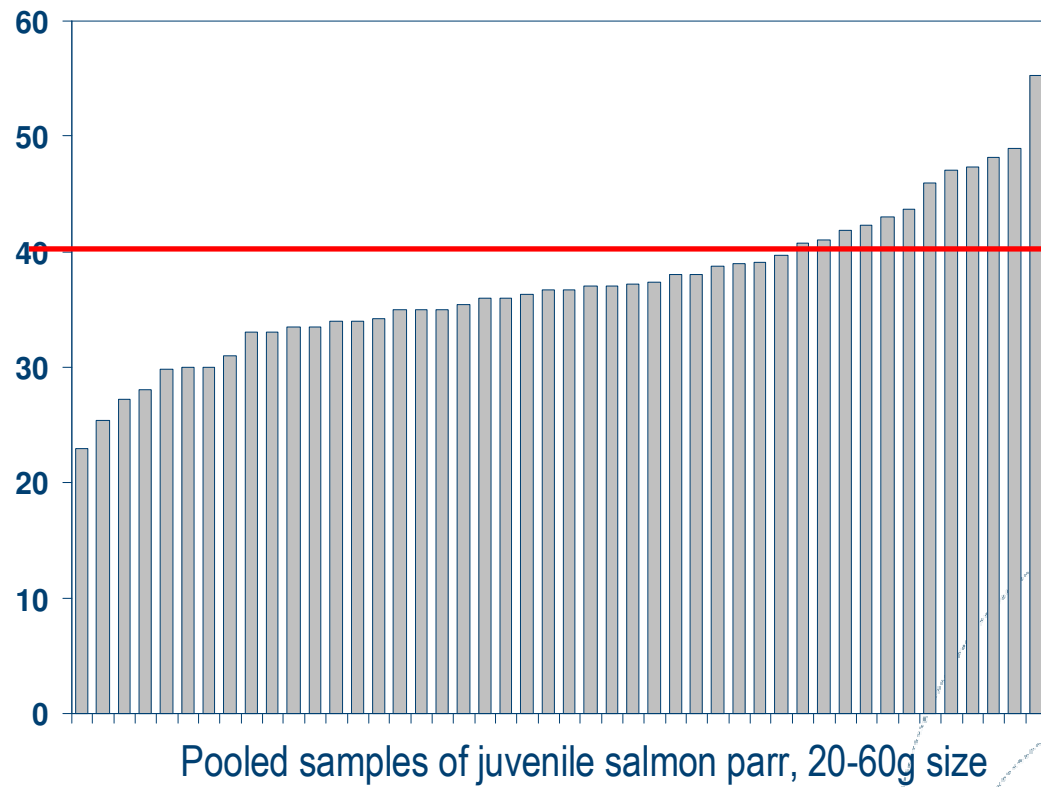
Whole body Ca



Data fra SalmoBreed og Nofima

# Sink i lakseparr 20-60g fra kommersiell produksjon (2006-08)

mg Zn kg<sup>-1</sup> fish, whole body



Lower limit for whole body content of zinc in juvenile A. salmon (Shearer et al., 1994)

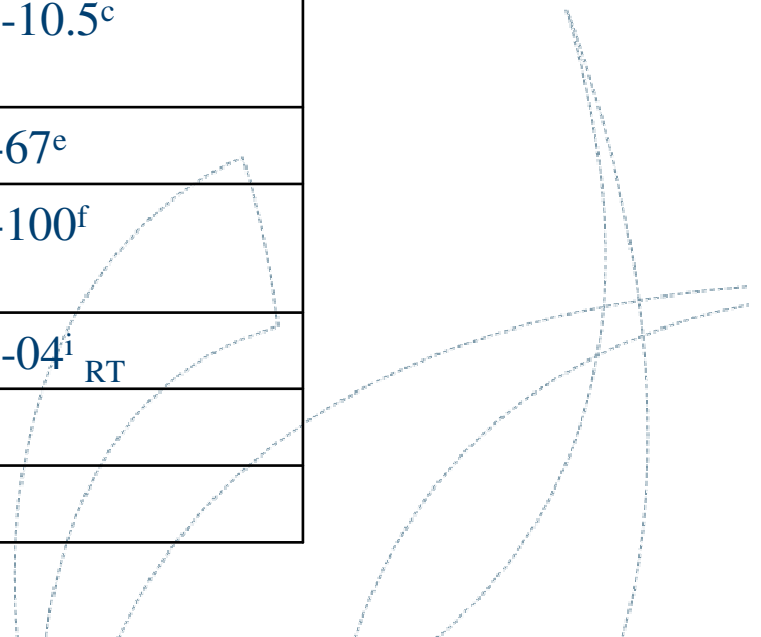
# Hvor kommer behovstallene fra?

- Lite eller ingen aktivitet innen fagområdet siste tiår, begrenset tilfang av litteratur
- Gjeldende behovsestimat bygger i stor grad på ett eller få studier
- Mange av disse studiene er gjort med dårlig tilvekst, med 'sære' dietter og under lite relevante produksjonsbetingelser
- Rapporterte P-behov 6-11 mg kg<sup>-1</sup>
- Rapporterte Zn-behov 37-67 mg kg<sup>-1</sup>





<b>Mineral</b>	<b>Recommended Supplementation Practical diets</b>	<b>Minimum requirement Semi-purified diets</b>
<b>Ca</b>	3 - 18 <sup>p</sup>	
<b>P</b>		6 <sup>j</sup> - 11 <sup>n</sup>
<b>Mg</b>		0.33 <sup>o</sup> 0.5 <sup>k</sup> -1.4 <sup>l</sup> <sub>RT</sub>
<b>Cu</b>	5-10 <sup>a</sup>	-
<b>Mn</b>	10-15 <sup>b</sup>	7.5-10.5 <sup>c</sup>
<b>Zn</b>	>67 <sup>d</sup>	37-67 <sup>e</sup>
<b>Fe</b>	-	60-100 <sup>f</sup>
<b>Se</b>	0 <sup>h</sup>	0.2-04 <sup>i</sup> <sub>RT</sub>
<b>Co</b>	-	-
<b>Mo</b>	-	-



Element	Species	Reference	Fish size interval (g)	Dietary protein source	Duration of study (weeks)	SGR*	Estimated requirement
<b>P</b>	<b>A. salmon</b>	Ketola, 1975	6,5-9,5	Soybean meal	5	1,1	0,6g available P 100g <sup>-1</sup> diet
		Vielma & Lall, 1998	42-170	Casein, gluten, corn starch	15	1,3	0,83-0,93%
		Åsgård & Shearer, 1999	1,4-3,5	Casein, gelatin	9	1,5	0,9% available P at FCR 0,6
	<b>Rainbow trout</b>	Ogino & Takeda, 1978	1,2-3,5	Egg albumin	6	2,5	0,7-0,8% available P
		Ketola & Richmond, 1994	9-28	Casein, blood meal, albumin	10	1,6	0,54-0,61% non-phytin P
			35-105		15	1,1	
<b>Zn</b>	<b>A. salmon</b>	Maage & Julshamn, 1993a	40-150	Cod muscle	8	1,6	>67 mg kg <sup>-1</sup> dry diet
		Maage & Julshamn, 1993b	0,15-1,5	Cod muscle	12	2,7	57-97 mg kg <sup>-1</sup> dry diet
	<b>Rainbow trout</b>	Ogino & Yang, 1978	1,8-9,5	Egg albumin	8	3	15-30 mg kg <sup>-1</sup>
		Satoh et al., 1987	1,3-6,4	Egg albumin	12	1,9	20-49 mg kg <sup>-1</sup>

5g



P-mangel begrenser ikke vekst



*Staining and photo: Synnøve Helland*

# Subkliniske effekter

- Det tar lang tid før subkliniske mangel-effekter på bein kommer til uttrykk i form av deformiteter
- Langtidseffekter på bein observert etter forbigående mangelperioder
- Tilvekst påvirkes ikke, annet enn i alvorlige tilfeller
- Hvilke andre fysiologiske/patologiske effekter er det av subklinisk mangel?
- Immunkompetanse, sårheling osv.
- Lite undersøkt

## Dietary vitamin- mineral interactions that have been described in salmonids.

Interactive components	Interaction (-/0/+)	References
Vitamin C - Iron	+	Sandnes <i>et al.</i> 1990; Maage <i>et al.</i> 1990; Andersen <i>et al.</i> 1996; Andersen <i>et al.</i> 1998
Vitamin C – other minerals	-/+	Waagbø <i>et al.</i> 2000
Vitamin D - Calcium	+	Hayes <i>et al.</i> 1986
Vitamin D – Phosphorous	(+)	Vielma <i>et al.</i> 1999a
Vitamin E - Iron	0	Waagbø <i>et al.</i> 1993; Waagbø & Maage 1992
Vitamin E - Selenium	+ + 0	Poston <i>et al.</i> 1976; Bell <i>et al.</i> 1985; Maage & Waagbø 1990
Vitamin E - Zinc	0	Maage & Waagbø 1990
Pyridoxine – Iron	-	Albrektsen 1994

# Faktorer som påvirker behov og utnyttelse

- Fiskens biologiske behov for mineraler påvirkes sannsynligvis av mange faktorer
  - Veksthastighet, livsstadium, overgang mellom livsfaser, preging, kritiske stadier
  - Lys, temperatur, vannkvalitet, produksjonsstrategi...
  - Sykdom? Vaksinebivirkninger?
  - Triploider
  - Resirkulering??
  - ...
- Slik informasjon etterspørres, men eksisterer i svært liten grad



# Biological variation in mineral absorption

Apparent digestibility coefficients (ADC) for some elements in **82 full-sib family groups** of Atlantic salmon (Average weight 4,6 kg). (Modified after Thodesen et al, 2001a)

	Mean	SD	CV	Min	Max
ADC-P	40,4	6,4	15,8	23,9	54,8
ADC-Zn	37,9	6,7	17,7	18,3	51,3

Apparent digestibility coefficients (ADC) for some elements in **15 individual Atlantic salmon** (Average weight 1,7 kg). (Modified from Rydland, 1998)

	Mean	SD	CV	Min	Max
ADC-P	38,9	5,8	14,9	30,4	49,2
ADC-Zn	44,7	7,8	17,4	32	57,7

# Faktoriell tilnærming for beregning av behov

- Shearer, 1991

$$C = (G + E - U) / (A/F)$$

- Forenklet modell

$$P_{\text{fisk}} = P_{\text{for}} * FCR * P_{\text{dig}}$$

Konsentrasjon i fisk

Konsentrasjon i for

Forfaktor (kg for/kg tilvekst)

Fordøyelighet

# Forenklet modell anvendt i forhold til P-behov for laks

Dietary P content mg/kg (%)	Digestibility of P %	FCR (kg feed/ kg weight gain)	Available P mg/kg per kg weight gain
12 000 (1,2 %)	50	1	6000
12 000 (1,2 %)	40	0,7	3360

# Fordøyelighet påvirkes av miljøfaktorer og teknisk forkvalitet

---

	<u>Constant environment</u>		<u>Variable environment</u>	
	Feed A	Feed B	Feed A	Feed B
P	36.9	29.7	27.7	22.7
Zn	31.3	24.7	18.7	19.0

---

Feed A: High water stability

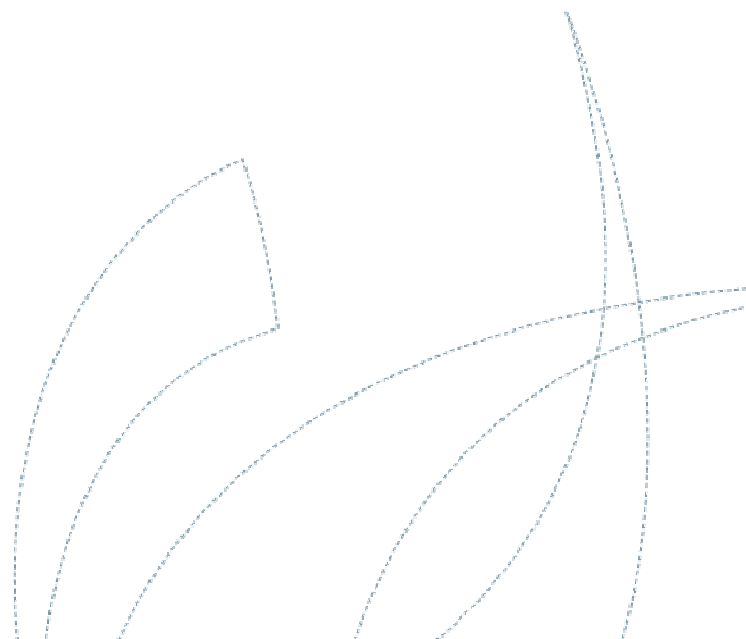
Feed B: Low water stability

Variable environment: Temperature and salinity fluctuations

Aas et al., 2011

# Toksiske grenser

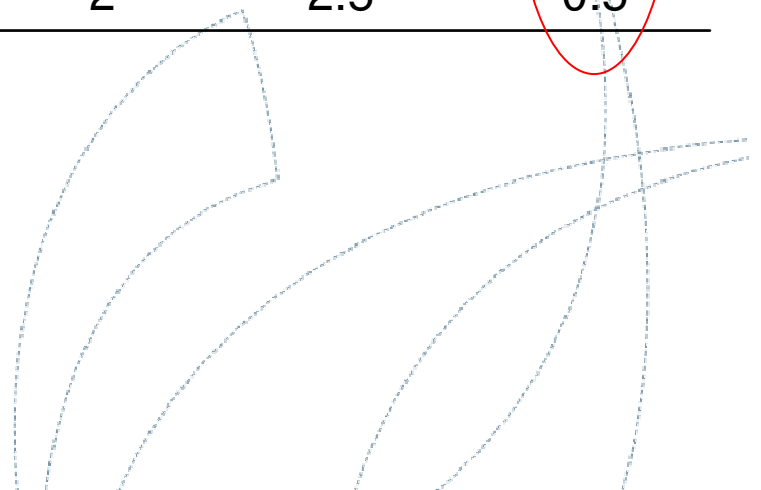
Øvre grenser er etablert for en rekke mineraler, men det er et stort behov for kunnskap om selen på grunn av betydelige overskridelser av øvre grenseverdi for selen i dagens fiskefôr.



# Levels of essential trace elements in Norwegian commercial feed samples in 2009 (n=25, mean (min.-max.), as well as EU upper limits for supplementation

	Iron	Zinc	Copper	Manganese	Cobalt	Molybdenum	Selenium
Mean	180	168	10	42	0.36	0.84	1
Min.- Max.	(115- 248)	(110- 230)	(8-13)	(25-89)	(0.09- 0.89)	(0.42-1.4)	(0.42- 1.5)
Limit	750	200	25	100	2	2.5	0.5

Source: Måge *et al.*, 2010

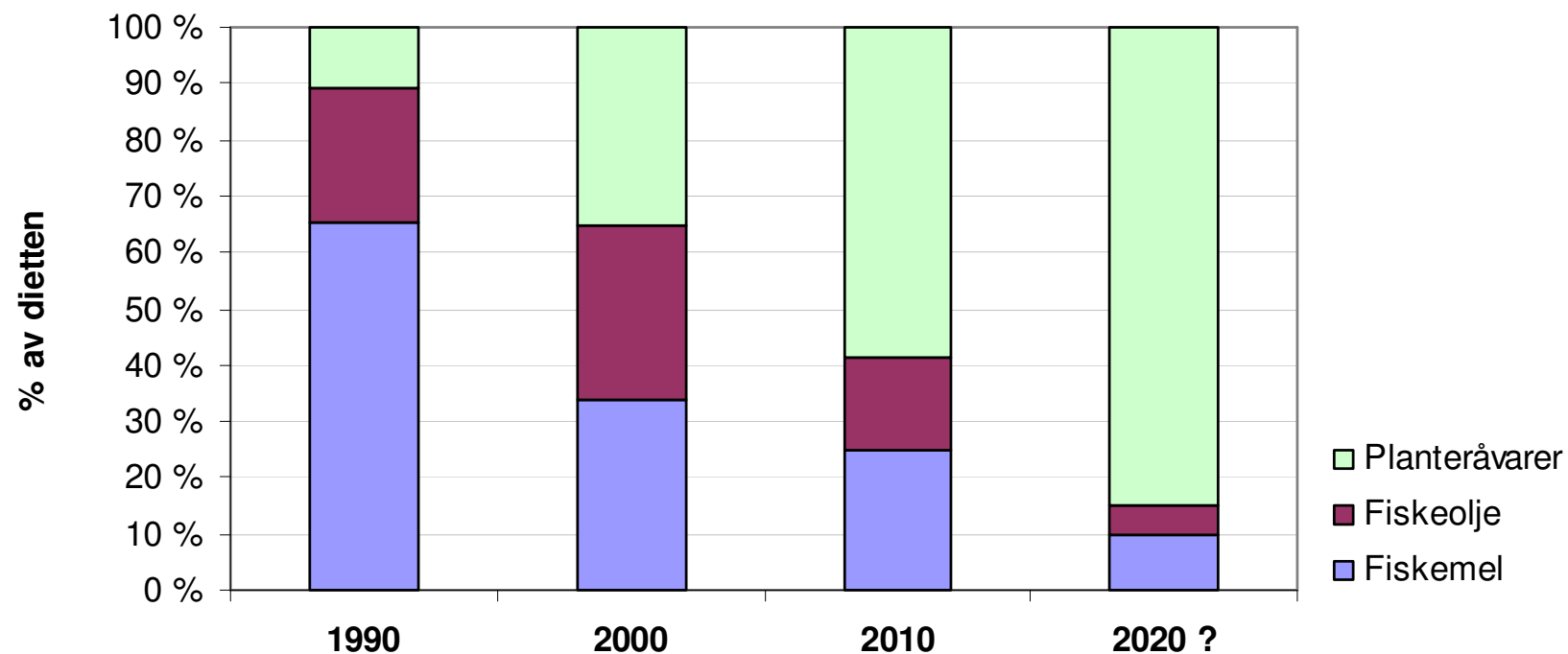




# Plantefôrmidler

- Mange ulike råstoff, stor variasjon i egenskaper
- Inneholder generelt mindre makromineraler enn marine råstoff, kan inneholde mer sporelementer
- Utfordrende mht. makromineraler, spesielt P
  - P er bundet til fytat
  - Krever ekstra tilsetning
- Det foreligger ikke langtidsstudier av effekt på mineralisering/skjelettutvikling
- VKM (2009) nevner utfordringer knyttet til mineralisering, men angir ikke dette som en av risikofaktorene ved bruk av plantefôrmidler

# Bruken av planteråvarer er kraftig økt de siste 20 år



Ytrestøyl m.fl. 2011



# Marine råstoff

- Marine råstoff har vært en viktig kilde for fosfor og andre mineraler
- Bidraget går ned pga redusert fiskemelsandel
- Ny kunnskap viser stor variasjon i biotilgjengelighet av mineraler fra fiskemel
  
- Tilgjengelighet påvirkes av beininnhold i fiskemelet
- Det er mulig å øke tilgjengeligheten gjennom syrebehandling
  
- Utviklingsarbeid pågår: Hvordan bruke beinrikt restråstoff som P-kilde i fiskefor

# Metodikk, behovsstudier

- Metoder for bestemmelse av behov er lite utviklet
  - Få studier er gjort i nyere tid, ingen på 2000-tallet
  - Bruk av nyere redskaper (molekylære verktøy) er fraværende
  - Det er ingen standardisering av tilnæringsmåte eller responsparametre
  - Studiene bygger på forsøk med lav tilvekst
- Tradisjonell metodikk gir minimumsbehov, hvordan komme derfra til praktiske anbefalinger?
- Hvordan tar vi høyde for den biologiske variasjonen?

# Metodikk, bestemmelse av tilgjengelighet og opptak

- Bestemmelse av fordøyelighet i fôringsforsøk v.hj.a. indikator eneste dokumenterte metode
- Kan ikke brukes på liten fisk
- Fordøyelighet i sammensatte fôr versus fordøyelighet av fôringredienser er en utfordring metodemessig
- Mange faktorer kan påvirke resultatet, det er ingen kultur for (og ikke nok kunnskap nok til) å trekke disse inn i vurderingene
- Veldig få fordøyelighetstall er offentlig tilgjengelige!
- Molekylære analyser av markører for opptak: Under utvikling
- In vitro-metoder?
- Løselig P: Metode under utvikling

# Metodikk, overvåkning av mineralstatus hos fisken

- Metodene er lite standardisert
- Helkroppsanalyser mest standardisert, og referansetall eksisterer
  - Referansetallene er gamle (1994), kanskje for gamle
  - Helkroppsanalyser lite egnet på stor fisk og alternativer er lite standardisert
- Andre analysetilnærminger i bruk, men gir tall som er vanskelig å sammenlikne mellom studier
  - Lite egnet for kommersielt bruk
  - Kan analyser av skjell bidra?
- Kjemiske analyser gir uansett et øyeblikksbilde, og forteller lite om dynamikken i mineralstatus



# Metodikk, overvåkning av skjelettutvikling

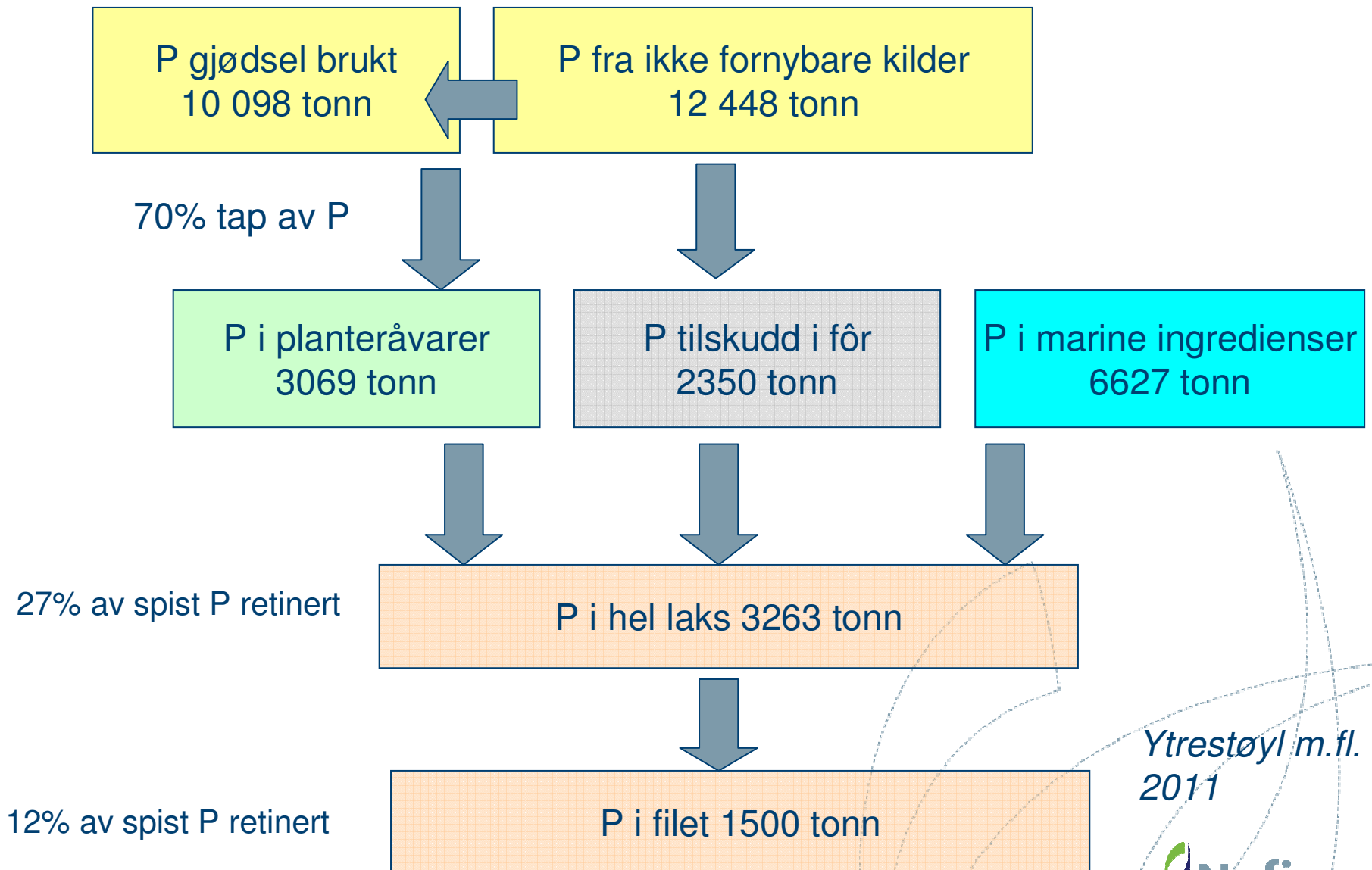
Røntgen mest brukt (men ikke mye brukt)

- Det eksisterer en del diagnostiske kriterier
  - I stor grad sen-effekter
  - Lite standardiserte kriterier
  - Kompetansen ligger i få miljøer
  - Ingen aktive overvåkningsprogram

Histologi, molekylære studier

- På vei inn, er tatt i bruk i forskningssammenheng
  - Arbeids- og kompetansekrevende metoder
  - Tidlig stadium av kunnskapsutvikling
  - Har potensiale til å bli praktiske verktøy

# Fosforbudsjett for norsk laks 2010



Ytrestøyl m.fl.  
2011