



Utredning: Effekter av endret fettsyre- sammensetning i fôr til laks relatert til fiskens helse, velferd og robusthet

“Fett for fiskehelse”



Prosjektgruppe og forfattere

Bente E. Torstensen, NIFES (Forskningsdirektør; Prosjektleder)

Bente Ruyter, Nofima (Seniorforsker, professor)

Nini Sissener, NIFES (Forsker)

Tone-Kari Østbye, Nofima (Forsker)

Rune Waagbø, NIFES (Forskningsjef, professor)

Sven Martin Jørgensen, Nofima (Forsker)

Elisabeth Ytteborg, Nofima (Forsker)

Ida Rud, Nofima (Forsker)

Nina Liland, NIFES (Stipendiat)

Turid Mørkøre, Nofima (Seniorforsker)

Jens-Erik Dessen, Nofima (Forsker)

Prosjektets styringsgruppe

Tor Eirik Homme, Grieg Seafood (leder av SG)

Leiv Tvenning, Marine Harvest.

Harald Sveier, Lerøy Seafood Group ASA.

Bård Skjelstad, Salmar.

Merete Bjørgan Schrøder, FHF (observatør)

Kjell Naas, Norges forskningsråd (observatør)

Prosjektets referansegruppe

Grethe Rosenlund, Skretting ARC.

Sigurd Tonheim, Ewos.

Håvard Jørgensen, Biomar.



Innhold

Forord	5
Oppsummering	6
English summary	7
Oppsummering av kunnskapsstatus og FoU behov på kort og lengre sikt	8
Effekter av endret fettsyresammensetning i fôr til laks relatert til fiskens helse, velferd og robusthet	13
Innledning	13
Hva er kjent om minimumsbehov for omega-3 fettsyrer i laks og ørret	14
Ferskvannsfasen	14
Sjøvannsfasen	16
Hvordan definerer vi ernæringsbehov i dagens intensive matproduksjon av laks og ørret?	18
Hvorfor er fett viktig for fiskens helse og velferd? Kort om funksjon av fett:	19
Navnsetting av fettsyrer	20
Bioaktive funksjoner av fett	22
DEL 1: Ernæringsrelaterte helse- og velferdsutfordringer i oppdrett av laks og ørret.	26
Motstandsdyktighet mot infeksjoner inkludert inflammasjon	26
Katarakt og andre øyelidelser	28
Beinhelse	30
Fettdeponering som symptom på omega-3 mangel – kan laks og ørret utvikle metabolsk syndrom?	32
Innvollsfett	32
Økt fettdeponering i lever	34
Økt fettdeponering rundt hjerte	35
Hjerte/kar helse	36
Tarmhelse	37
Mikrobiota hos laksefisk	39
Stress	40
DEL 2; Samspill mellom fettsyresammensetning i fôr og andre faktorer komponenter i oljekilden	42
Samspill med andre næringsstoff i fôr	43
Arvbare miljøeffekter - epigenetikk	45
DEL 3; Hvordan påvirker endringer av fett i fôr mengden i spiselig del	48
Mettet fett	50
Enumettet fett	52

Omega-6	53
Forholdet mellom omega-3 og omega-6.....	54
Strategier for å optimalisere lagring av EPA og DHA.....	57
Sesongvariasjoner i fettlagring	57
Optimalisering av fettsyrer i fôr for EPA og DHA retensjon	58
Sluttfôring før slakt (Finishing diet period)	59
Ressursregnskap for EPA og DHA utnyttelse.....	60
Kan avl gi økt kapasitet til å produsere og lagre EPA og DHA?	60
Genmodifisering av fisk	61
DEL 4; Sentrale hensyn som må tas når minimumsbehov for EPA og DHA skal bestemmes	63
Referanser:	64



Foto: Helge Skodvin

Forord

Utredningen *Effekter av endret fettsyresammensetning i fôr til laks relatert til fiskens helse, velferd og robusthet (Robust fisk) "Fett for Fiskehelse"* er finansiert av Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond (FHF) og er utført av en prosjektgruppe bestående av forskere ved Nofima og NIFES.

En vitenskapelig prosjektgruppe med spesialkompetanse innen ernæring, fettomsetning hos fisk, fiskehelse, metabolisme og -velferd ble ledet av forskningsdirektør Bente E. Torstensen (NIFES) i tett samarbeid med seniorforsker Bente Ruyter (Nofima). Prosjektgruppens oppdrag var å sammenstille dagens kunnskapsstatus og identifisere kunnskapsbehov relatert til produksjon av robust fisk og fettsyresammensetning av spiselig del når fettsyresammensetning i fôr endres. En styringsgruppe og referansegruppe bestående av sentrale aktører i fôr- og sjømatnæringen ble opprettet for å sikre utredningens relevans for næringen.

Prosjektet startet i mars 2013 og utredningen var ferdigstilt juni 2013. Det er gjennomført to telefonmøter med styringsgruppen underveis i skriveprosessen i tillegg til dialog med referansegruppen. Det har vært en god og åpen dialog med representanter fra fôrindustrien underveis der alle har bidratt med upubliserte resultater og kunnskap relevant for utredningen. 12.juni ble det gjennomført et heldags arbeidsmøte ved NIFES med alle involverte fra prosjektet og sjømatnæringen; fôrselskapene og sjømatprodusentene, også representert ved FHL og NSL. På arbeidsmøtet ble utkast av utredningen grundig presentert og diskutert. I tillegg har Merete Bjørgan Schrøder (FHF) og Kjell Naas (Norges forskningsråd) vært observatører i arbeidet.

Da fettnivå varierer i fôr er det presist å uttrykke mengden EPA og DHA fisken har spist som % EPA+DHA i fôret, og ikke som % EPA+DHA av total fett. Det er gjennomført i denne utredningen.

Bergen, 25.06.2013

Bente E. Torstensen

Oppsummering

Rapporten oppsummerer kunnskapsstatus for laks og ørrets minimumsbehov for EPA og DHA. Det er fokusert på minimumsbehov som sikrer optimal ytelse i form av vekst og forutnyttelse, fiskehelse, -velferd og mengde omega-3 i fiskens filet. Når mengden av de marine ingrediensene i fiskefôr går ned må de erstattes med andre fett og proteinkilder. Det er derfor minst like viktig å fastsette øvre grense for omega-6, optimal mengde mettet fett, enumettet fett og fytosteroler som påvirker fiskens vekst og forutnyttelse, helse, velferd og mengde omega-3 i filet. Valg av alternative oljekilder i fremtidens fôr bør gjøres basert på laksens ernæringsbehov og toleransegrenser for ulike fettsyrer. Der kunnskapen er sprikende eller mangelfull er det utredningens oppgave å identifisere kunnskapshull og FoU behov.

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, avlesing av arvematerialet, og inflammasjonsrespons. Av de fiskehelseutfordringene næringen håndterer i dagens havbruk, er følgende fiskehelse og velferdstilstander identifisert å bli påvirket av fettsyresammensetningen i fôret:

*MOTSTANDSDYKTIGHET MOT VIRUS, BAKTERIER OG PARASITTER

*KATARAKT

*BEINUTVIKLING OG BEINHELSE

*HJERTE/KAR HELSE

*STRESSMESTRING

*TARMHELSE

*FETTLAGRING OG LAVERE-GRADS KRONISK INFLAMMASJON

Når fettsyresammensetningen i fôret endres blir også mengden av EPA+DHA, omega-6 og enumettet fett i spiselig del endret. Mettet fett derimot øker ikke i filet selv om mengden i fôr øker utover mengden en fiskeolje vil bidra med. Ved å optimalisere ulike strategier, som genetik, fôrets fettsyresammensetning og årstidsvariasjon kan ressursutnyttelsen av EPA+DHA i fôret optimaliseres slik at oppdrettslaks kan være en netto produsent av EPA og/eller DHA. Optimaliserte strategier kan bidra til at oppdrettslaks og ørret fortsetter å være en god kilde for EPA+DHA for konsumenten når minimumsbehovet til laksen er dekket.

English summary

This review focus current knowledge of minimum dietary requirement of EPA and DHA for Atlantic salmon and rainbow trout related to optimal growth, feed efficiency, fish health and -welfare and amount of EPA+DHA in the fillet. When marine ingredienses decrease in fish feed they have to be replaced by other lipid and protein sources. It is therefore just as pivotal to determine the upper tolerable limit of dietary omega-6 and fytosterols and optimal levels of monounsaturated and saturated fatty acids which sustain optimal performance, robust fish and optimal EPA+DHA in fillet. Such knowledge will enable future fish feed formulation to be based on dietary requirements and upper tolerable levels of fatty acids. Where current knowledge is vague or absent the report identify and describe knowledge gaps.

A major impact of dietary fatty acids on fish performance and health is expected since lipids and fatty acids have several core biological functions in the body. They serve as the building blocks of all cell membranes, they regulate the expression of genes, and they are precursors of a range of bioactive substances that regulate inflammation, physiology and satiation. In this report the following health and welfare challenges relevant for the aquaculture today, was identified to be affected by changes in dietary fatty acid composition;

* RESISTANCE TOWARDS VIRUS, BACTERIAL PARACITE INFECTIONS

*CATARACT

*BONE DEVELOPMENT- AND HEALTH

*CARDIOVASCULAR DISEASES

*COPING WITH STRESS

*INTESTINAL HEALTH

*ADIPOSITY AND LOW-GRADE INFLAMMATION

When fatty acid composition of the diet changes, levels of EPA, DHA, omega-6 and monounsaturated fatty acid in the fish and fillet is altered. In contrast, when dietary saturated fatty acids increase fillet levels of saturated fatty acids does not increase beyond the levels seen when fish are fed fish oil. By optimizing aquaculture strategies such as genetics, dietary fatty acid composition and seasonal variation the retention of EPA+DHA can be optimized to achieve a net production of EPA and/or DHA in farmed salmon and trout sustaining farmed salmonides as a good source of EPA+DHA for human consumption.

Oppsummering av kunnskapsstatus og FoU behov på kort og lengre sikt

Hva er kjent om minimumsbehov for omega-3 fettsyrer i laks og ørret

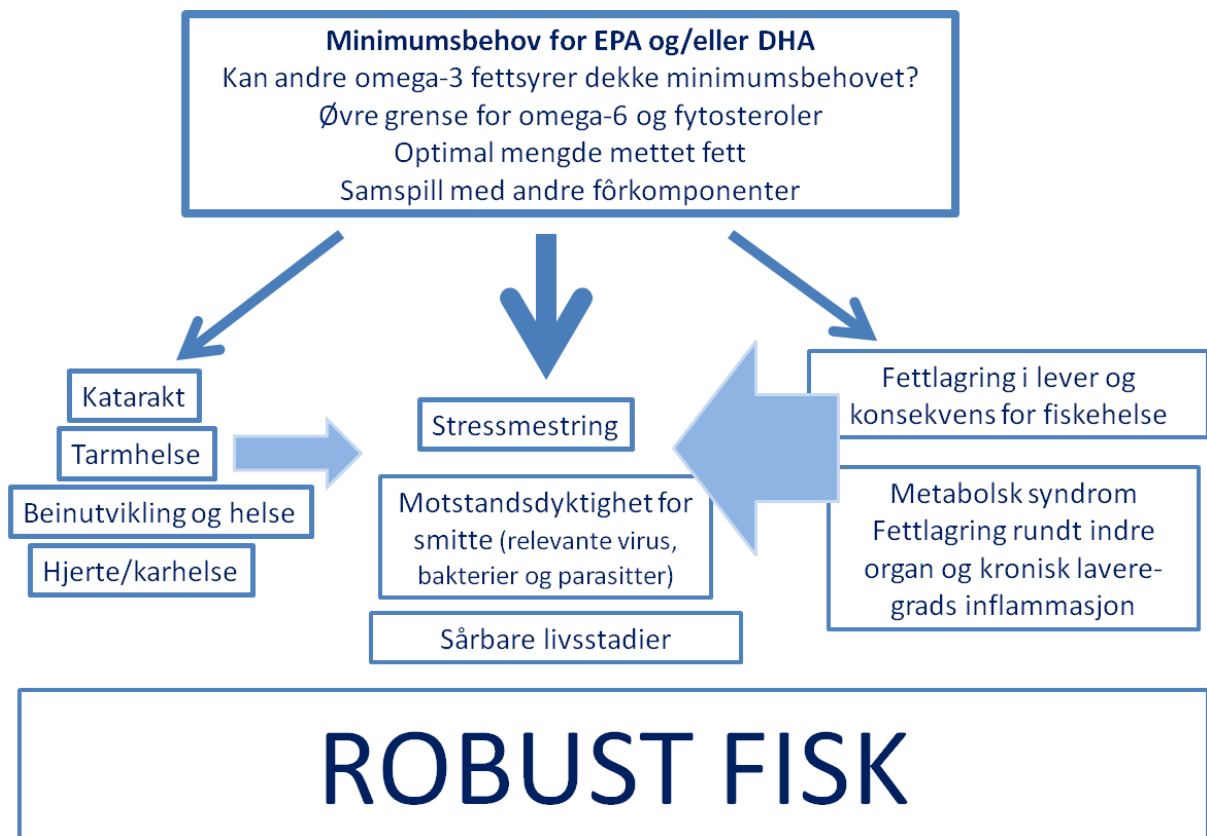
Samlet publisert materiale for regnbueørret og laks i **ferskvannsfasen**, tyder på at laks og ørret har behov for minimum 1% EPA og DHA i fôret for å unngå redusert tilvekst. De fleste studier så langt tyder på at laks i **sjøvannsfasen** tolererer høye innblandingsnivåer av ulike typer planteoljer eller planteoljemix (75-100% planteoljemix. Rafoamix består av 4:2:1 rapsolje:palmeolje:linfrøolje) i fôret gjennom store deler av produksjonssyklusen uten at det påvirker veksten negativt og at dødeligheten er neglisjerbar og ikke påvirket av fettsyresammensetning. Enkelte studier har for øvrig vist at høye nivå av planteoljemix (rafoamix) i fôr i kombinasjon med lavt nivå av fiskemel, kan ha negativ innvirkning på tilvekst og at det ofte kan forklares med redusert fôrinntak. Ett langtidsforsøk kan tyde på en mindre robust fisk når fett i fôret besto av 70% rapsolje. Dette er usikkert og må støttes opp med ny kunnskap, og er trolig i stor grad påvirket av forskjeller i fôringredienser og ytre miljøfaktorer.

Ernæringsrelaterte helse- og velferdsutfordringer i oppdrett av laks og ørret (figur 1)

Det er behov for kunnskap om konsekvensene av en kraftig reduksjon i mettet fett for fiskens helse, samt å definere et **"optimalt vindu" for innhold av mettet fett** som tar hensyn til en øvre grense for fordøyelighet og en nedre grense for helse.

Det er behov for kunnskap om **øverste tolerable mengde av omega-6** i fôr til laks både av hensyn til laksens fôrinntak, vekst, helse og velferd og av hensyn til **filetens bidrag av omega-6 til et kosthold** og betydningen av hvilken effekt det å spise laks vil ha på folks helse når omega-6 bidraget øker i forhold til bidraget av omega-3.

Både mengde omega-3 og omega-6 og forholdet mellom dem (omega-3/omega-6 ratio) har betydning for en rekke biologiske prosesser. **Optimalt forhold mellom omega-3 og omega-6** må bestemmes samtidig med minimumsbehov og øvre toleransegrense.



Figur 1; Oppsummert fiskehelse og velferdstilstander som er dokumentert påvirkes av fettsyresammensetning i fôret, og kunnskapsbehov for å sikre produksjon av robust fisk med endret fettsyresammensetning i fôret.

Det er dokumentert at fettsyresammensetning i fôr påvirker **infeksjoner og immunforsvar** hos laks. Her mangler kunnskap om hva som er optimal fettsyresammensetning for god beskyttelse mot virusinfeksjoner. Videre mangler kunnskap om optimal fettsyresammensetning for fiskens evne til å håndtere bakterieinfeksjoner eller lakselus. Det er viktig å gjennomføre mekanistiske studier parallelt for å forstå effektene av fettsyrer på patofysiologiske responser og økt sykdomsmotstand.

Gjeldene kunnskap dokumenterer at smolt som spiser ned mot 2,5 % EPA og DHA av fôret frem til slakt ikke har økt risiko for **katarakt**. Vi trenger kunnskap om **kataraktutvikling** ved minimumsnivå av EPA og DHA, øvre toleransegrense for omega-6, og om fôring med lav EPA+DHA og høy omega-6 tidlig i fiskens liv er utslagsgivende for senere kataraktrisiko. Interaksjonen mellom histidin og membranens lipider i utviklingen av katarakt må dokumenteres siden histidin både fungerer som osmolytt, antioksidant, og buffersubstans.

For lite EPA og DHA og for mye omega-6 gir **redusert beindannelse** og endret utvikling i tidlige livsfaser, men minimumsnivå av EPA og DHA og et optimalt omega-3/omega-6

forhold for god beinutvikling i tidlige livsstadier er ikke etablert. På senere livsstadier ser det ut til at fisken takler økte planteoljekonsentrasjoner i fôret i form av rafoamix bedre og at disse til og med kan ha positive effekter. Forsøkene som foreligger er ofte avgrenset til korte perioder i fiskens liv og kunnskap om langtidseffekter gjennom produksjonssyklus mangler.

Fettsyresammensetning i fôr påvirker **fettlagringsmønster** hos laks og ørret. Motstridende resultater tyder på at utvikling av fettlever, økt fettlagring rundt hjerte og indre organer styres av mengde EPA og DHA, omega-6, mettet fett i fôret, i samspill med en rekke andre faktorer. Kunnskap om helseeffekter og **motstandsdyktighet mot sykdom ved økt innvolls fett** mangler hos laks og ørret. Disse artene lagrer overskuddsfett både rundt indre organer og i muskelen, og om mengde og type lagringsfett kan føre til en lavere-grad kronisk inflammasjon hos laks og ørret bør etableres. Videre er det ennå ikke kjent om triploid laks, tilsvarende som triploid ørret, har økt innvolls fett og om det vil kunne påvirke fisken helse negativt. Det er behov for kunnskap om langtidseffekter av lave EPA og DHA nivå i fôr på **fettlagringsmønsteret koblet til motstandsdyktighet mot sykdom** og samspillseffekter med andre fôringredienser og miljøfaktorer.

Det er godt dokumentert at **laks utvikler arteriosklerose men ikke aterosklerose med alder** og at utviklingen ikke blir mer alvorlig når mengden EPA og DHA går ned mot 0,5 % i fôret, ei heller når mengden omega-6 i fôret er høyt (med 80% soyaolje) *når mengden EPA+DHA var 1,4 % av fôret*. Det er ikke kunnskap om et minimumsnivå av EPA og DHA sammen med høy omega-6 eller høy mettet fett vil gi uønskede histologiske endringer i hjerte.

Det er ikke vist klart om **fettakkumulering i tarmceller** påvirker **inflammasjon** i tarm som igjen kan påvirke fiskens helse og velferd. Det kan også tenkes at fettakkumulering som ikke er kronisk, men som avtar over tid etter et måltid ikke har negative helseeffekter for fisken. Kunnskap bør fremskaffes som viser om fettakkumulering i tarmceller induisert av endret fettsyresammensetning i fôret gir negative konsekvenser for fiskens helse, og hvilke minimumsnivå av EPA og DHA som er optimalt for **god tarmhelse**.

Det dokumenteres stadig flere sammenhenger mellom diett, tarmflora og human helse. Hos fisk forstår vi ennå lite av interaksjonen mellom fettsyresammensetning i fôr, **tarmflora og fiskehelse**. Et viktig verktøy vil være å benytte seg av de nyeste DNA baserte metodene, som

også kan gi informasjon om de ikke dominerende bakteriene, hvor betydningen for fiskehelsen er uavklart.

Dagens kunnskap om effekten av fettsyresammensetning på **stressmestring** er vag, selv om studiene så langt tyder på at fettsyrene kan påvirke stressrespons og fiskens akklimatisering etter stress, sannsynligvis gjennom cellemembranens fysiske integritet, eikosanoidsyntese og hormonkontroll. Det er behov for å etablere hvor lave nivåer av EPA og DHA, og kanskje spesielt hvor høye nivåer av omega-6 fettsyrer som påvirker ulike typer stress og **fiskens evne til å håndtere stress**.

Når fiskeolje byttes ut med ulike planteoljer reduseres mengden kolesterol mens fytosteroler introduseres i fiskefôr. Foreløpige resultater tyder 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** i forhold til mengde mettet fett gjenstår å bestemme og dermed kunne gi en anbefalt øvre grense for fytosteroler og fytosterol/kolesterol ratio i fôr til laks og ørret.

Fettkilder med sine variable og unike sammensetninger viser interaksjon på flere områder og dette må tas hensyn til i sammensetningen av fremtidens fôr. Minimumsbehov for EPA og DHA, øvre grense for omega-6 og optimal mengde mettet fett må bestemmes i **sammenheng med mineraler, vitaminer og andre fettløslige komponenter i fôr til laks og ørret**.

Laks og ørret har flere **sårbare stadier** i løpet av livssyklus, som tidlig utvikling av egg og juvenile, smoltifisering og kjønnsmodning. Det er klare indikasjoner på at ernæring er en viktig faktor for **epigenetisk regulering** (endringer i DNA som uttrykkes i senere livsstadier og overføres til neste generasjon) i laks som kan øke eller begrense tap i produksjon. Det er behov for kunnskap om laksens behov for EPA og DHA, mettet fett og omega-6 i ulike og spesielt i **sårbare livsfaser**.

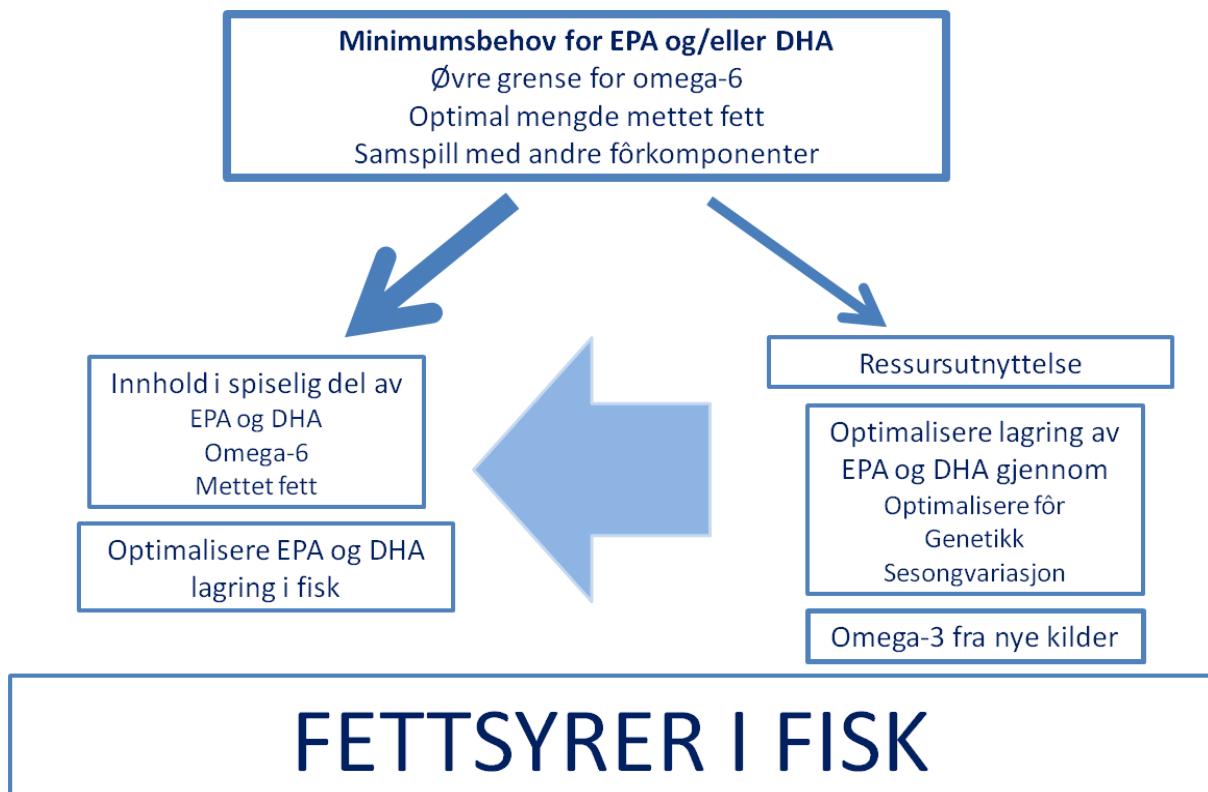
Hvordan påvirker endringer av fett i fôr mengden i spiselig del (figur 2)

Siden 2005 har mengden EPA og DHA i laksefilet gått ned, mettet fett har gått ned og mengden omega-6 har gått opp. I 2010 var bidraget fra 100 g laks 2,1 g EPA og DHA, noe som er en veldig god omega-3 kilde for humant konsum. Det er godt dokumentert at når mengden enumettet og omega-6 fett i fôret øker så øker mengden tilsvarende i **filet**. På samme måte reflekterer mengden omega-3 i filet mengden fisken har spist. Mettet fett,

derimot, øker ikke når mengden mettet fett i fôr øker. For omega-3 fettsyrene EPA og spesielt DHA vet vi at mengden som lagres i hel fisk og filet øker når fisken spiser lite EPA og DHA fra fôret.

Det er stort potensial til å optimalisere retensjon av EPA og DHA i laks, og laks og ørret kan være en **netto produsent av EPA og DHA** når forholdene og dietten optimaliseres for det formålet.

Det trengs allikevel kunnskap om hva de optimale forhold 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**. Et framtidig mål bør være at oppdrett av laks og ørret skal være en netto produsent av EPA og DHA, samtidig som man leverer et sunt produkt til forbruker.



Figur 2; Oppsummert kunnskapsbehov sammensetning av fettsyrer i filet og optimalisering av EPA og DHA mengde i fisk ved endret fettsyresammensetning i fôret.

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

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 egne 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 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 optimal næringsstoffsammensetning for oppdrettsfisk og bidrar blant annet med omega-3 fettsyrene EPA (eicosapentaensyre; 20:5n-3) og DHA (docosaheksaensyre; 22:6n-3) i overskudd. 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 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 en stabil men begrenset ressurs. En global vekst i sjømatproduksjonen forutsetter 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 fisk. 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, helse og velferd vil angi hvor lite fiskeolje og fiskemel fôret kan inneholde. Noe som igjen vil være førende for vekstpotensiale for produksjonsvolum av laks og ørret i akvakultur

de nærmeste årene. Det er derfor avgjørende i dagens situasjon med meget begrenset tilgang av fiskeoljeressurser globalt å vite det trygge nedre minimumsnivå av EPA og DHA i fôr til 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 blir mindre. Da må vi tilsvarende som for EPA og DHA vite effektene på fiskens vekst, helse og velferd av omega-6, mettet fett, enumettet fett og andre omega-3 fettsyrer i fôret.

Denne rapporten oppsummerer kunnskapsstatus for laksens og ørretens minimumsbehov for EPA og DHA. Det er fokusert på hvilke minimumsbehov som sikrer optimal fiskeytelse i form av vekst og forutnyttelse, helse, velferd og mengde omega-3 i fiskens filet som går til konsum. Videre er det et mål for rapporten å oppsummere kunnskapsstatus for fiskens vekst, helse og velferd når fiskeolje i fôret erstattes med ulike alternative oljekilder som bidrar med andre typer fettsyrer. Der kunnskapen er sprikende eller mangelfull er det rapportens oppgave å identifisere kunnskapshull og FoU behov.

Hva er kjent om minimumsbehov for omega-3 fettsyrer i laks og ørret

Ferskvannsfasen

Allerede i akvakulturnæringens spede begynnelse på 1960 tallet, ble man klar over at ørret hadde behov for tilførsel av visse fettsyrer via dietten for å oppnå god vekst og overlevelse (Lee et al., 1967, Owen et al., 1975). Dietter rike på maisolje og soyaolje, og som dermed hadde et høyt nivå av 18:2 n-6, gav en rekke uheldige effekter som dårlig tilvekst og tydelige mangelsymptomer som skader på finner, økt leverindeks, bleke leverer, histologiske endringer i hjertet og redusert overlevelse (Owen et al., 1975). Ørret fôret med en diett som inkluderte omega-3 fettsyrer vokste raskere, med bedre fôrutnyttelse og lavere dødelighet (Lee et al., 1967). Disse tidlige studiene viste at omega-3 fettsyrer i fôret er nødvendig for å oppnå god vekst, mens tilskudd av 18:2 n-6 ikke gir bedre vekst. Dette er forskjellig fra coho salmon (Yu og Sinnhuber 1979) og chum salmon (Takeuchi et al. 1979), hvor 18:2 n-6 øker veksten betydelig. Tidlige studier har vist at økende nivåer av omega-3 opp til 1% i fôret til Atlantisk laks i ferskvannsfasen gir bedret tilvekst, og fisk fôret med blandingen av EPA og DHA vokste hurtigere enn fisk fôret med 18:3 n-3 som eneste omega-3 kilde (Ruyter et al., 2000a). Disse tidlige studiene med Atlantisk laks viste få markante mangelsymptomer, i form av negative helse effekter, sammenlignet med de tidligste studiene fra ørret. I fôret til ørret ble det benyttet planteoljer med meget høye nivå av n-6 fettsyrer, mens oljekilden i behovsstudien

til laks var kokosnøttolje med lavt nivå av n-6 fettsyrer. I tillegg til eventuelle artsforskjeller, kan dataene tyde på at også andre faktorer kan påvirke helseeffekter, som n-6 fettsyrenivået og andre forskjeller i ernærings- og miljøfaktorer. Det er videre vist at laks fôret med dietter fri for omega-3 fettsyrer i hele ferskvannsfasen, i stor grad konserverer disse fettsyrene i membraner (fosfolipider) og at nivået kraftig reduseres i lagerdepotene (triglyseridene) når fisken vokser (Ruyter et al., 2000b). Stor evne til å konservere EPA og DHA i membranlipider i sentrale vev og organer, når det finnes lite av disse i fôret, har antagelig stor betydning for laksens helse.

De tidlige studiene ble gjennomført med semi-syntetiske dietter med lavt fettinnhold i fôret, sammenlignet med det som er den aktuelle situasjonen i næringen i dag. En utfordring med å bestemme behov når semi-syntetiske dietter har vært benyttet, er dårlig fôrinntak og relativt lav tilvekst sammenlignet med fisk i kommersielt oppdrett (Ruyter *et al.*, 2000a). Det finnes ikke nyere publiserte behovsstudier fra ferskvannsfasen, hvor det er benyttet tilnærmet kommersielle dietter og hvor fisken har oppnådd god ytelse i form av tilvekst og fôrinntak. Det er for øvrig nylig gjennomført et forsøk med Atlantisk laks i ferskvannsfasen med bruk av 5% fiskemel i fôret og hvor fiskeolje er erstattet med rapsolje. I overensstemmelse med tidligere publiserte behovsstudier fra ferskvannsfasen, tyder foreløpige resultater på at 1% EPA og DHA i fôret er tilstrekkelig for å oppnå maksimal tilvekst under de aktuelle forsøksbetingelsene. Forsøket må for øvrig verifiseres, da det er noe usikkerhet rundt vekstdataene (Dominic Nanton (Ewos) pers. med.).

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 (oversiktsartikkel, Glencross 2009). Fortsatt er mye ukjent om behovet for individuelle omega-3 fettsyrer (18:3n-3, 18:4n-3, EPA, DPA og DHA) i fisk med god ytelse (med fôrinntak og tilvekst som forventet i kommersielt oppdrett), og hvordan behovet påvirkes av nye fôringredienser, n-6 fettsyrenivået og miljøfaktorer.

Sjøvannsfasen

Det mangler grundige behovsstudier i sjøvannsfasen fra smolt-stadiet til stor produksjonsfisk for laks og ørret. Når behov skal fastsettes kreves det et basisfôr uten omega-3 fettsyrer, noe som betyr et basisfôr uten fiskemel og fiskeolje. Erfaring fra behovsstudier fra ferskvannsfasen tilsier at semi-syntetiske dietter uten fiskemel og fiskeolje gir lavere fôrinntak og tilvekst, og vil dermed ikke gi et godt bilde av behov.

Selv om det ikke finnes klassiske behovsstudier fra sjøvannsfasen, finnes det en rekke 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 lakseproduksjonssyklusen, og 75-100% utskifting av fiskeolje med en rafoamix (Rafoamix består av 4:2:1 rapsolje:palmeolje:linfrøolje), gjennom hele produksjonssyklusen, ikke påvirker veksten negativt, men påvirker FA sammensetningen av den spiselige delen (Bell et al., 2002; Bell et al., 2001; Bell et al., 2003a; Bell et al., 2003b; Regost et al., 2004; Rosenlund et al., 2001; Torstensen, 2000; Torstensen et al., 2005; Torstensen et al., 2004b; Waagbø et al., 1991; Waagbø et al., 1993c; Stubhaug et al., 2007, Sanden et al., 2011) som også er oppsummert av Turchini og kollegaer (2009). Videre gjenspeiles fettsyresammensetningen av fôret i fiskens organer (Bell et al., 2001; Bell et al., 2003b; Caballero et al., 2002; Nanton et al., 2007; Olsen et al., 1999; Stubhaug et al., 2007; Thomassen & Røsjø, 1989; Tocher et al., 2003; Torstensen et al., 2005; Torstensen et al., 2004a; Torstensen et al., 2004b; Torstensen et al., 2000; Waagbø et al., 1991). I de fleste av studiene over følges fisken kun i kortere perioder i sjøvannsfasen. For å kunne vurdere behov, er det derimot nødvendig med studier av langtidseffekter av lave omega-3 nivå i fôret. Det finnes kun noen få publiserte livsløpstudier med lave EPA og DHA nivåer i fôr (Torstensen et al., 2005, Torstensen et al., 2008). I studien av Torstensen et al (2005) ble det benyttet 40 % fiskemel i fôret, og nivået av EPA og DHA i planteoljemix-fôrene (Rafoa-mix) var 1,9 % (fôringsforsøk gjennomført i Skottland) og 0,5% av fôret (fôringsforsøk gjennomført i Norge) i sjøvannsdelen av livssyklusstudiet (sluttvekt 2,2 kg). Dødeligheten var neglisjerbar gjennom forsøkene, og lave nivå av EPA og DHA i fôr påvirket ikke tilvekst negativt i disse to langtidsstudiene. Tvert imot hadde laks som spiste rafoamix-diett med 0,5% EPA+DHA av fôret høyere vekst i sjøvannsfasen (Torstensen et al 2005).

I en studie gjennomført av Torstensen et al (2008) ble 80% av fiskemelet erstattet med planteprotein (totalt 17% FM+Krillmel av fôret) og 70% av fiskeoljen erstattet med

planteoljemix (Rafoamix) 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 marin profil, noe som ble forklart av lavere fôrinntak i første del av forsøket.

Nylig viste Liland et al (2013) at når fiskemelinnblandingen var lav og konstant for alle fôrgrupper (18% FM 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 lavere vekst (Liland et al, 2013).

Et pågående prosjekt ledet av Skretting ARC har nylig gjennomført et fôringsforsøk med kun 10 % fiskemel i fôr og bruk av Skrettings Microbalance[®], og har vist god vekst i Atlantisk laks fôret med 0,5 – 1,8% EPA+DHA i fôret i sjøvannsfasen, dog med en tendens til redusert vekst i gruppen med laveste EPA og DHA nivå i fôret. Foreløpige analyser viste minimale effekter på helseparametere (Sissener et al, upubliserte resultater). Imidlertid er dette arbeidet ikke avsluttet, slik at det er for tidlig å konkludere.

I et nylig avsluttet forsøk i sjø (Mørkøre et al. 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% (EPA og DHA 7% av fôret). Laksen ble håndtert mye i løpet av forsøksperioden på syv måneder, med gjentatte individveiinger og andre analyser (NIR, lengdemåling) 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 var desember-mars proteinnivået i fôret relativt lavt (standard 35%). Lav sjøtemperatur, kombinert med et lavt proteinnivå i fôret og høyt nivå av rapsolje har trolig bidratt til økt fettakkumulering i slaktefisken.

De fleste studier så langt tyder på at laks i sjøvannsfasen tolererer høye innblandingsnivåer av planteoljer i fôret (75-100% enkeltplanteoljer eller mix av planteoljer) gjennom store deler av produksjonssyklusen uten at det påvirker veksten negativt og at dødeligheten er neglisjerbar og ikke påvirket av fettsyresammensetning. Enkelte studier har for øvrig vist at høye nivå av planteolje i fôr i kombinasjon med lavt nivå av fiskemel, kan ha negativ

innvirkning på tilvekst og at det ofte kan forklares med redusert fôrinntak. Ett langtidsforsøk kan tyde på en mindre robust fisk når fett i fôret var 70% rapsolje. Dette er usikkert og må støttes opp med ny kunnskap, og er trolig i stor grad påvirket av forskjeller i type planteolje og ytre miljøfaktorer.

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

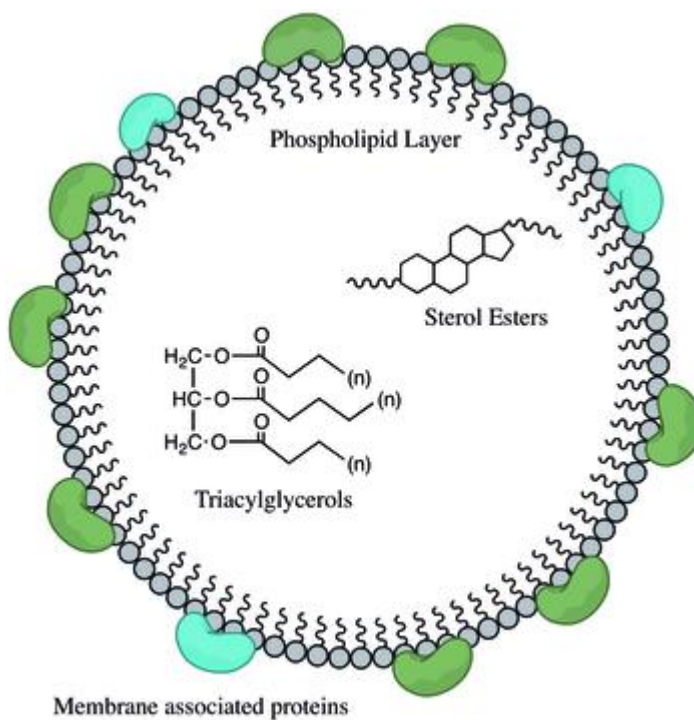
Ubalanse i sammensetningen av næringsstoff kan være en av flere mulige forklaringsfaktorer for 10-20% tap av oppdrettslaks gjennom livssyklus. Årsakene til dødelighet kan være vanskelig å fastslå på grunn av mangfoldet av utfordringer i næringen. Det er stor kunnskapsmangel om minimumsbehovet for EPA og DHA gjennom ulike livsstadier i laks som opprettholder viktige produksjonsegenskaper som rask vekst og lav fôrfaktor. Kriteriene for fastsetting av ernæringsbehov er ikke klart definert. Hittil har ernæringsbehov hos fisk stort sett vært definert ut i fra tilvekst og overlevelse, noe som er en for begrenset definisjon. En definisjon for ernæringsbehov bør også omfatte informasjon om best mulig balanse mellom ulike næringsstoff /energikilder, og nivå som gir optimal ytelse i henhold til en rekke kriterier knyttet til vekst, fravær av symptomer på mangel, optimal fiskehelse (inkludert motstandskraft mot sykdom). Det er viktig å definere noen tidlige symptomer på omega-3 fettsyremangel, siden sub-optimale mangel tilstander 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 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:

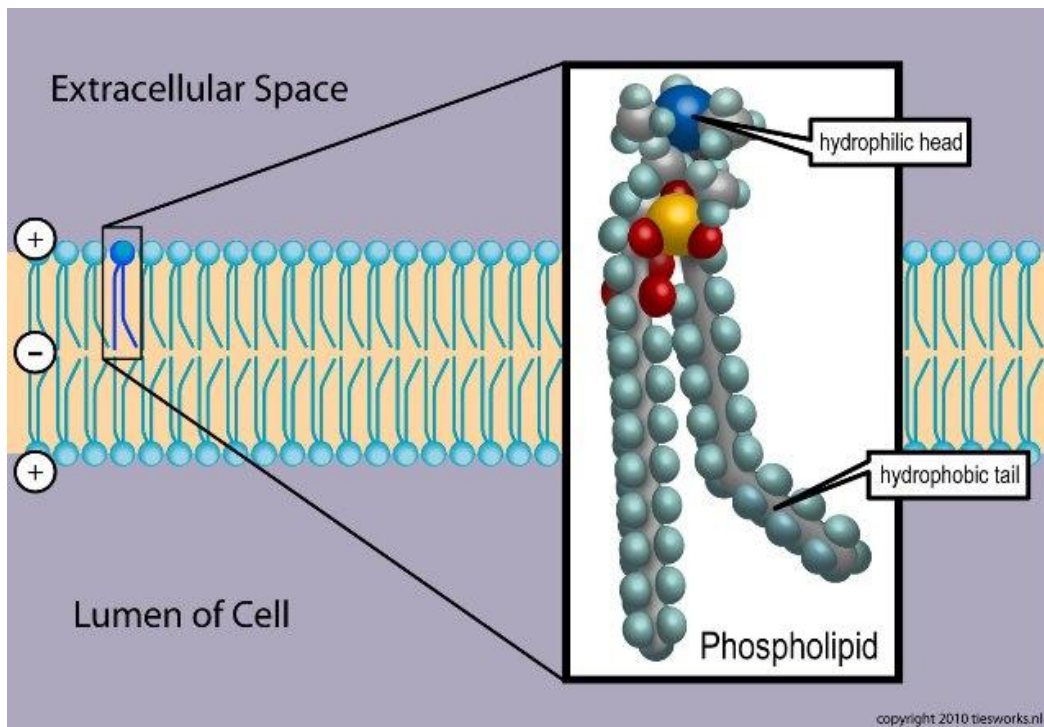
Fett, som også kalles lipider, er en gruppe organiske molekyler som ikke er løselige i vann, men i ulike organiske løsemidler (metanol, etanol, kloroform osv.). Eksempler er triacylglycerol (TAG), kolesterol og fosfolipider. Fett i form at TAG fungerer som energikilde og energilager i kroppen, da det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



Figur 3; Fettdråpe med triacylglycerol (TAG) i kjernen som lager for energi i form av fett.

Kilde: www.wikipedia.org

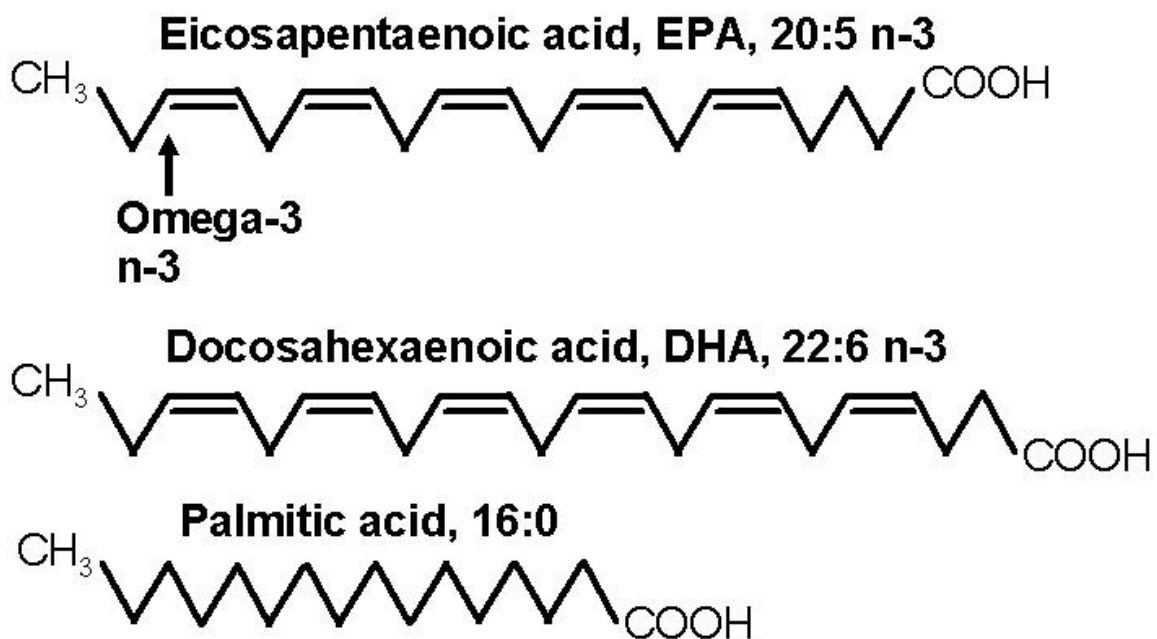
I tillegg har fett strukturelle roller blant annet i form av fosfolipider som er byggesteinene sammen med kolesterol i alle cellemembraner. Fett er også forløpere for ulike hormoner og signalmolekyler og fettsyrer kan binde til reseptorer i cellekjernen og regulere avlesing av DNA.



Figur 4; Fosfolipidenes strukturelle rolle i oppbyggingen av cellemembraner, som består av doble lag av fosfolipider med fettsyrener inn mot midten. Kilde: www.wikipedia.org

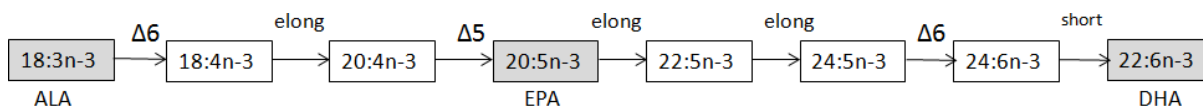
Navnsetting av fettsyrer

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 navnet blir 20:5n-3, og dette er en omega-3 fettsyre også kalt en n-3 fettsyre (Figur 5).



Figur 5; Navnsetting av fettsyrer

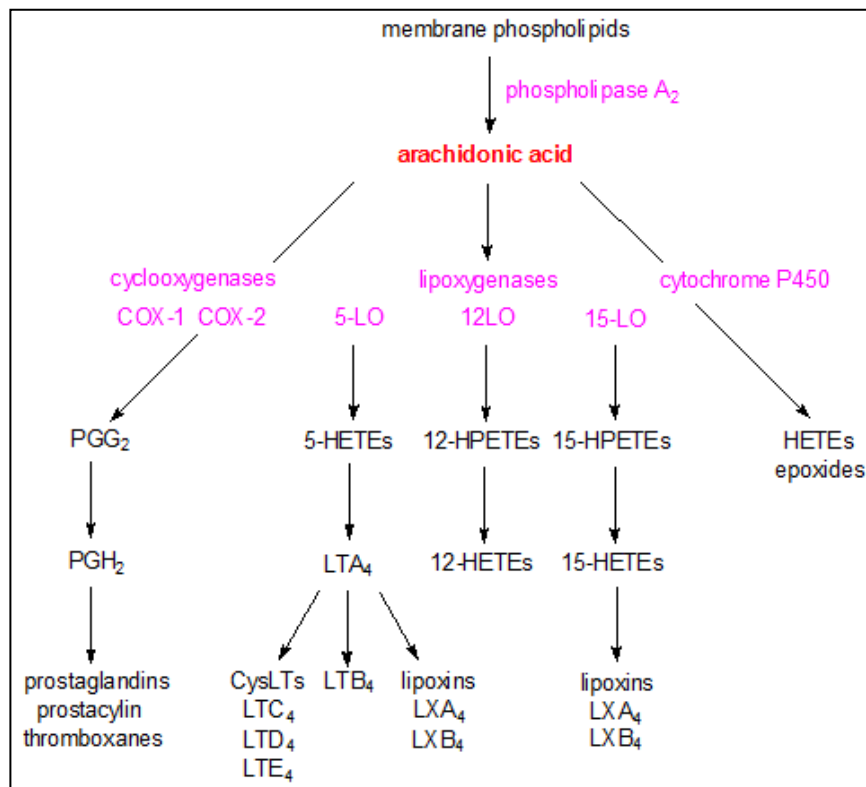
Noen fettsyrer er essensielle, det vil si at de må tilføres gjennom maten/fôret, da de ikke kan dannes i kroppen. For virveldyr er de flerumettede fettsyrene i omega-3 ($18:3n-3$) og omega-6 ($18:2n-6$) familien essensielle. I denne rapporten er det mest fokus på de langkjedede omega-3 fettsyrene (≥ 20 karbonatomer) EPA og DHA. Disse kan dannes i kroppen fra alpha-linolensyre (ALA, $18:3n-3$), som er den korteste omega-3 fettsyren med 18 karbonatomer og tre dobbeltbindinger. 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 6).



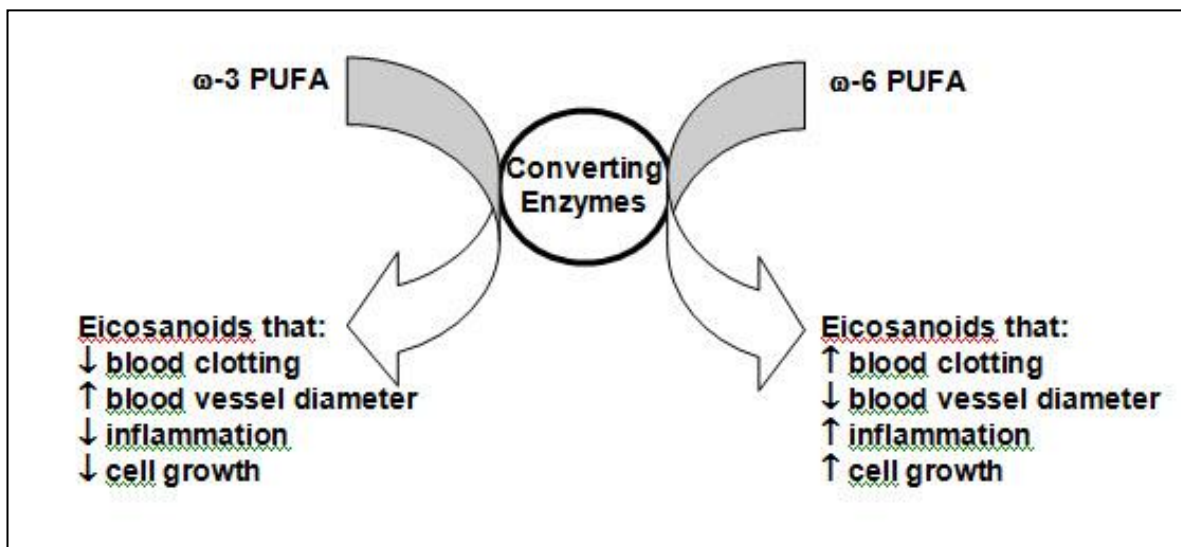
Figur 6; Syntese fra ALA ($18:3n-3$) til EPA ($20:5n-3$) og DHA ($22:6n-3$) går gjennom flere steg der dobbeltbindinger legges til (desaturering, ved hjelp av enzymene $\Delta 5$ - og $\Delta 6$ -desaturase) og der kjedelengden økes med to karbonatomer (elongering, ved hjelp av elongase-enzymet) og til 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 7), 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 biologiske effekter på biologiske funksjoner som blodplateaggregering, inflammasjon og immunrespons, dermed er balansen mellom EPA og ARA i cellemembranene veldig viktig (Figur 8).



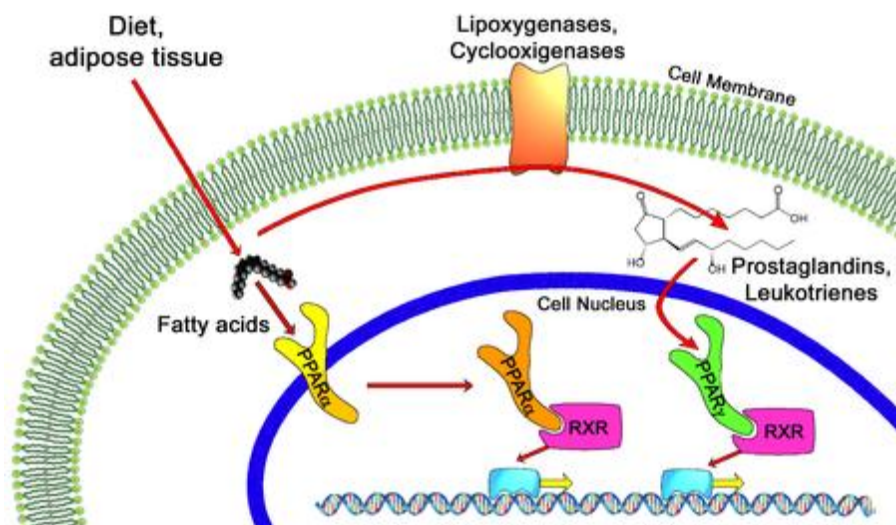
Figur 7; Eicosanoid syntese i celler foregår via tre ulike enzymsystemer (cyklooxigenaser (COX), lipoxygenaser (LOX), P450-systemet). Eicosanoider produsert fra disse tre systemene har ulike navn; Prostaglandiner, prostacycliner og thromoxaner produseres via COX-syntesevei. Leukotriener og lipoxiner produseres via LOX-syntesevei. Epoxider produseres via cytochrom P450. Kilde: www.lipidlibrary.aocs.org



Figur 8; Eicosanoider som dannes fra omega-3 fettsyrer har ofte en annen effekt på helse sammenlignet med eicosanoider 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.

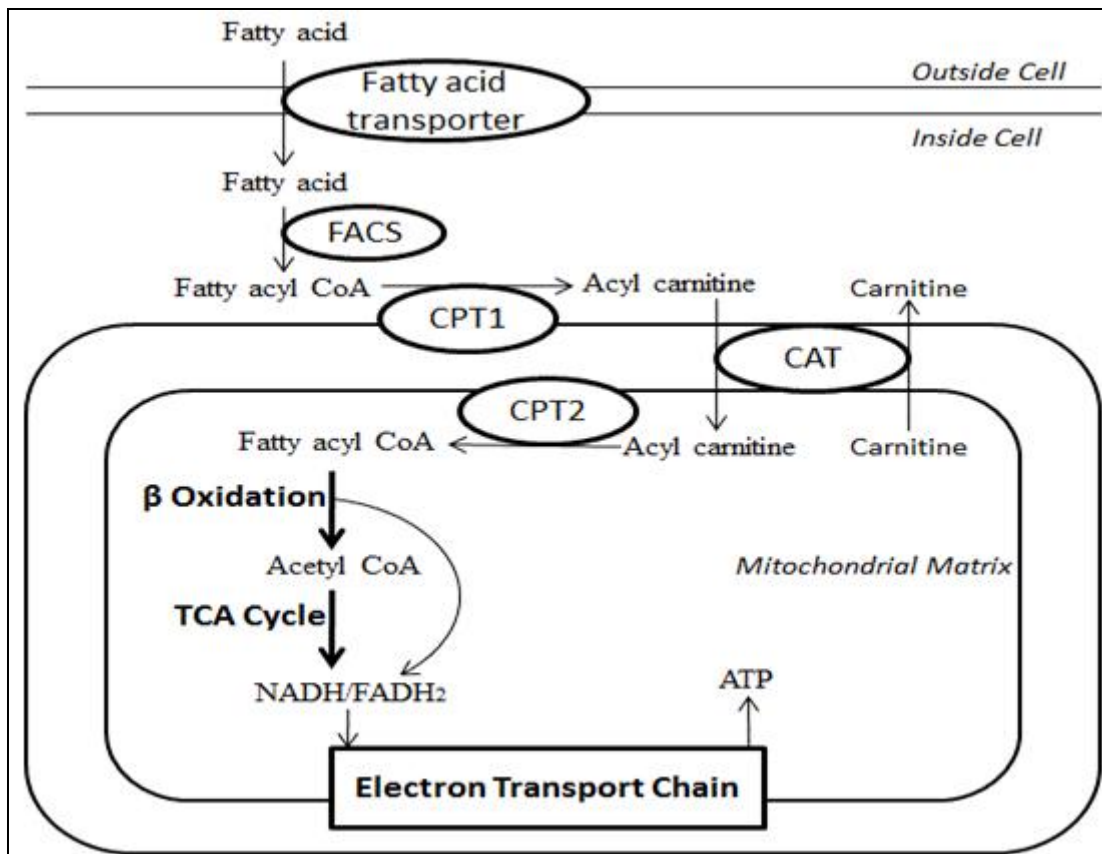
Mettede, enumettede og flerumettede fettsyrer er alle vist å direkte kunne regulere avlesingen av DNA i celler. Det skjer ved at en fettsyre binder til proteiner som dermed blir aktive og kan binde til DNA i cellekjernen og regulere avlesing og produksjon av proteiner i cellene (Figur 9). En ubalanse i fettsyrer i cellene kan dermed gi et endret genuttrykk som kan ha konsekvenser for helsen.



Figur 9; Et eksempel som viser hvordan fettsyrer fra fôr kan binde til proteiner som dermed blir aktive og regulerer avlesing av gener i DNA.

Lipider som inneholder omega-6 fettsyren ARA (20:4n-6) er forløpere til endokannabinoider. Disse er bioaktive stoff som er mye mindre beskrevet enn eicosanoider, men som man så langt mener regulerer matinntak, energiomsetning og inflammasjon hos gnagere. Nylig har Alvheim et al (2013) vist at også laks produserer endokannabinoider, og at det blir mer i vev når laksen spiser soyaoljebasert fôr med mye omega-6.

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 et al 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 et al, 1999) Forsøk med leverceller fra laks tyder på tilsvarende mekanismer gjelder også for EPA og DHA og fettforbrenning hos laks (Stubhaug & Torstensen et al, in prep).



Figur 10; 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.

Fett og ulike 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.

DEL 1: Ernæringsrelaterte helse- og velferdsutfordringer i oppdrett av laks og ørret.

Motstandsdyktighet mot infeksjoner inkludert inflammasjon

Sammenlignet med andre komponenter i fôr (pre/probiotika, vitaminer, generelle immunomodulanter/stimulanter), finnes mindre 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 et al, 1991, Kiron et al, 1995, Thompson et al, 1996, Brandsen et al, 2003, Gjøyen et al, 2004). *In vitro* studier gir et tilsvarende bilde (Salte et al, 1988, Bektas & Ayik, 2010, Kiron et al, 2011). Kontrollerte feltforsøk mangler, og det eneste som er rapportert (Rørvik et al, 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 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). Samtidig kan det hevdes at disse studiene har mindre relevans i dagens oppdrett grunnet effektive vaksiner som har gitt god kontroll over disse sykdommene.

Effekter av fettsyrer på dagens relevante virussykdommer er lite studert, men nylig publiserte data viser at fôrets fettsyresammensetning kan redusere hjerteskode og dempe betennelsesreaksjoner hos laks under smitteforsøk med hjerte- og skjelettmuskelbetennelse (Martinez-Rubio et al, 2012, 2013) og kardiomyopatisyndrom (S. Wadsworth, pers. komm.) agens. Resultatene som viser at fettsyresammensetning i fôr påvirker immunresponser, patogenese og klinikk for den aktuelle sykdom. Neste steg bør være feltforsøk på selekterte lokaliteter med gjentatt sykdomshistorikk, for å studere effektene under kliniske utbrudd.

Det bør også fokuseres på effekt av endret fettsyresammensetning i fôret på andre aktuelle bakterieinfeksjoner (f eks *Moritella viscosa* (vintersår) og *Tenacibaculum* spp.) og lakselus, som aldri har vært studert i denne konteksten.

Selv om en rekke *in vitro* studier har vist effekter av omega-3 og omega-6 på ulike immunresponser (Balfry et al, 2006, Bell et al, 1992, 1993, 1996, Gjøyen et al, 2004, 2007,

Henderson et al, 1992, Kiron et al, 1993, 1995, 2011, Puangkaew et al, 2004, Seierstad et al, 2009, Thompson et al, 1996), sier disse isolert sett lite om fiskens *immunkompetanse* under en gitt sykdom. Det er avgjørende å forstå hvordan immunstatus før og etter infeksjon påvirkes av fôrets fettsyresammensetning, og hvordan det igjen påvirker faktisk utbrudd av virussykdommer som pankreas sykdom og infeksjøs pankreatisk nekrose. Parallelt med dette trengs mer basal kunnskap om molekylære og biokjemiske mekanismer for sentrale lipid-inflammatoriske faktorer (f eks eicosanoider) og metabolske og immunoregulatoriske responser på individuelle fettsyrer og i samspill (DHA, EPA, ARA), både ved bruk av *in vivo/ex vivo* og nylig utviklete *in vitro* modeller (Todorovic et al, 2008, 2009; Holen et al, 2011). Slik kunnskap bør integreres i større studier på enkeltsykdommer med fokus på sykdomsrisikoperioder gjennom livssyklus, i lys av fiskens overordnede helse og fysiologiske status og varierende miljøbetingelser (Tocher et al, 2000, Rørvik et al, 2007).

Det er dokumentert at fettsyresammensetning i fôr påvirker infeksjoner og immunforsvar hos laks, men kunnskap om hva som er optimal fettsyresammensetning for god beskyttelse mot virusinfeksjoner mangler. Videre mangler kunnskap optimal fettsyresammensetning for fiskens evne til å håndtere bakterieinfeksjoner eller lakselus. Det er viktig å gjennomføre parallelle mekanistiske studier for å forstå effektene av fettsyrer på patofysiologiske responser og økt sykdomsmotstand.



Katarakt og andre øyelidelser

Katarakt, også kalt grå stær, hos oppdrettsfisk er en lidelse som fører til blakking av øyets linse, noe som i alvorlige tilfeller fører til blindhet og redusert fôropptak. I forhold til sin spesielle struktur får linsen ofte de samme forandringene etter ytre eller metabolsk stress uansett årsak. Dette inkluderer svelling av linsefibrene (cellene), celleødeleggelse og epitelproliferasjon (Bjerkås et al., 2006). Skader i linsen medfører tap av gjennomsiktighet og lysspredning. Ved hjelp av en spesiell lupe (spaltelampe) kan man nærmere undersøke hvilken type, hvor mange fisk som er rammet og hvor alvorlig blakkingen av linsen er. Alvorlighetsgrad blir undersøkt ved å score linsen 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).

Forsøk har vist at mangel på utvalgte næringsstoff i fôret fører til katarakt hos oppdrettsfisk (se review av Bjerkås et al., 2006). Foruten de klassiske ernæringsmanglene, diskuteres også ulike relevante miljøbetingelser og ernæringsinteraksjoner i moderne havbruk. Økte oksidative forhold i linsen på grunn av høye tilskudd av mineraler, fettnivå og vannoksygenering ser ut til å påvirke kataraktutvikling i oppdrettslaks (Waagbø et al., 2003; 2008). Utbrudd av katarakt i felt og i eksperimentelle studier viser ofte at katarakt er relatert til rask vekst (Bjerkås et al., 1996, Breck og Sveier, 2001). Om dette gjenspeiler linsespesifikk næringsstoffmangel eller andre fysiologiske begrensninger i perioder med høye vekstrater må undersøkes.

Gjennom flere studier hos laksesmolt og stor laks er kataraktutvikling knyttet opp mot suboptimale nivå av histidin i fôret (Breck et al., 2005; Waagbø et al., 2010), og det praktiske behovet for histidin er funnet å være høyere enn behovet for vekst i perioden etter sjøutsett (Remø et al. Submitted 2013) og i perioder med høy vanntemperatur (Waagbø et al., 2010). Introduksjon av planteoljer (rafoamix) i fôr til laks har i noen tilfeller vært relatert til kataraktutvikling hos voksen laks (Waagbø, 2004; RAFOA 2005, samme forsøk som publisert i Torstensen et al 2005). Hos mennesker har forhøyede inntak av 18:2n-6 og 18:3n-3 gitt økt risiko for uklarheter i linsen, mens en annen studie fra den samme gruppen konkluderte med at høyere inntak av EPA+DHA fra feit fisk kan bidra til forebygging av katarakt (Lu et al. 2005a; 2005b). I to fôringsforsøk med laks gjennom hele livssyklusen, fra starfôring til slakting, ble det funnet høyere innslag og mer alvorlig katarakt i gruppene som fikk vegetabilsk oljemix sammenliknet med fiskeolje (75-100% erstatning av FO; RAFOA 2005). Til tross for linsens lave fettinnhold (0.5% av våtvekten) og at fettsyre- og

fettklassesammensetning er ekstremt konservativ og lite påvirket av fettsyrene i fôret, viser studier at n-6 fettsyrene var signifikant høyere i fisk gitt rafoamix (Waagbø et al., 2004; Remø et al. 2011; submittet 2013). Flere fôringsforsøk med laksesmolt (Remø *et al.* Submittet 2013) og stor laks (to forsøk i EU prosjektet AQUAMAX) har i ettertid ikke kunnet bekrefte at vegetabiliske oljer øker risikoen for kataraktutvikling. Likevel viser etablerte organkulturmodeller med linser fra fisk fôret med rafoamix at komponenter i planteoljene som omega-6, enumettede fettsyrer og/eller EPA+DHA i fôret kan påvirke osmoregulering i linsen (Tröbø et al., 2010), og at antioksidantforsvaret i linsen kan være påvirket av oljekilde, selv om det ikke ble funnet forskjeller i kataraktscore (Remø et al., 2011a). Nyere studier viser store forskjeller i kataraktutvikling mellom regnbueørret og laks av samme størrelse som har fått helt like eksperimentelle forhold (Remø et al., 2012; manuskript 2013). I forsøket avdekket linsens globale metabolske profil (metabolomics) blant annet høyere nivå av 20:4n-6 i laks, noe som sammen med høyere nivå av PGE₂ antyder en metabolsk signatur for inflammasjon hos laks sammenlignet med ørret (Remø et al., 2012; MS 2013).

Triploid laks har økt risiko for utvikling av katarakt (Taylor et al., MS 2013). 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 smolt som spiser ned mot 2,5 % EPA og DHA av fôret frem til slakt ikke har økt risiko for katarakt. Vi trenger kunnskap om kataraktutvikling ved minimumsnivå av EPA og DHA, øvre toleransegrense for omega-6, og om sammensetningen av fettsyrene i fôring tidlig i fiskens liv er utslagsgivende for senere kataraktrisiko. Interaksjonen mellom histidin og membranens lipider i utviklingen av katarakt må dokumenteres siden histidin både fungerer som osmolytt, antioksidant, og buffersubstans.



Beinhelse

Fiskens beinhelse påvirkes av mange faktorer i oppdrettssituasjonen, herunder fôrets sammensetning gjennom produksjonen fra yngel (Cahu et al., 2003; Waagbø, 2010; Hamre et al., 2010; Moren et al., 2011) til voksne stadier (Brown & Nunez, 1998; Waagbø et al. 2005; Lall & McCrea, 2007; Waagbø, 2006; 2008). Beindeforviteter hos laks har blitt karakterisert og klassifisert i forhold til utseende og lokalisering (Kvellingstad et al., 2000; Witten et al., 2006; 2009) og også beskrevet mer i detalj på molekylærnivå (Ytteborg et al., 2010 a, b, c). Hovedfokuset for beindeforviteter hos laks og ørret har med rette vært knyttet til mineralernæring og fosfor (review Bæverfjord et al., 2012), men også andre næringsstoff som vitaminer (vitamin C: Sandnes 1991; Waagbø 2006; vitamin D: Lock et al., 2010; vitamin K: Krossøy et al., 2011; vitamin A: Ørnstrud et al., 2013) og fettsyrer (Gil-Martens 2012) påvirker beinvevet og dets utvikling. Effekten av fettsyrer på beinmetabolismen avhenger både av type fettkilder og konsentrasjonen av disse (review Watkins et al., 2001). I europeisk havabbor er det vist at lave nivåer av EPA+ DHA øker andel fisk med beindeforviteter, mens i atlantisk laks har man vist at økt mengde planteoljer i fôret kan redusere beindannelse og øke forekomsten av deforviteter (Villeneuve et al., 2005; Villeneuve et al., 2006; Helland et al., 2006). I tilsvarende forsøk der fiskeoljer ble erstattet med soyaolje (høy omega-6) (Martens et al., 2010) ble det derimot konkludert med at lave nivå av EPA og DHA i fôret (0.9 og 1.3 mg/g fôr) ikke hadde noen negativ effekt på beinutvikling sammenliknet med fiskeoljebasert fôr (6.6 mg EPA og 6.8 mg DHA/g fôr). Disse ulike resultatene tyder på at det kan være ulike behov avhengig av fiskens livsstadium og at det fortsatt er ukjente faktorer og risikoer knyttet til minimumsnivå av EPA+DHA og maksimumsnivå av omega-6. I hovedsak kan beinvevet deles inn i ulike typer beinceller, organisk matriks og mineraler, og alle prosessene som vedgår disse kan i utgangspunktet påvirkes. Mange genmarkører innen cellulære funksjoner og differensiering er etablert (Wargelius et al., 2010; Ytteborg et al., 2010). Tilsvarende er beinmatriksen og mineraliseringsprosessen studert i beinvev og skjell forhold mineraltilgang og regulering av ulike mineraliseringsprosesser (review Fjelldal et al., 2012 og Bæverfjord et al., 2012). Fettkilders påvirkning av beinhelse er studert med hensyn på deres innhold av spesifikke fettsyrer og fettløselige vitaminer. Problemstillingene har vært n-3 og n-6 fettsyrer som forløpere til eikosanoider som regulatorer av inflammasjon og fettløselige vitaminers rolle i beinutvikling, kalsium- og fosforhomeostase, redoks-balanse og koagulasjon (Hamre *et al.*, 2010). Prostaglandiner blir produsert lokalt og kan påvirke både oppbygging og nedbryting av ben. Fettsyrer med n-6 gir f.eks. opphav til PGE₂ som kan

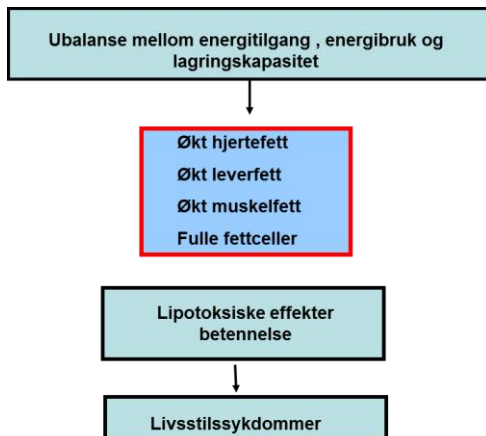
stimulere beinresorpsjon mens motsatt effekt har vært vist for n-3. Ytteborg et al. (2010) viste at tilsetning av DHA til beinceller i kultur kan redusere produksjonen av PGE₂. I samme forsøk ble det også vist at DHA kan stimulere osteocalcin-produksjon, et viktig protein for mineralisering av beinmatriks. Stor andel av PGE₂ kan videre føre til inflammatorisk tilstand i fisken. Kronisk inflammasjon bidrar til redusert Ca-innhold i bein og dermed redusert beinstyrke. Kvellestad et al. (2000) foreslo inflammasjon som riskofaktor for beindeformitet hos laks. I et fôringsstudie med fiskeolje eller soyaolje i fôr til lakseparr, kunne man ikke påvise en klar sammenheng mellom fettkilde i fôret og indusert inflammasjon på utvikling av beindeformiteter, verken i ferskvannstadiet eller etter oppfølging i sjøvann (Martens et al., 2010).

Det er fortsatt uklarerheter om fettsyrer eller -kilder påvirker beinhelsen, spesielt under rask vekst og forhøyete temperaturer, men det er sannsynlig at ulike fettkilder inneholder andre stoffer som kan påvirke beinhelsen positivt eller negativt. Forskning på kombinasjoner og konsentrasjoner av næringsstoffer, tilstedeværelse av antinæringsstoffer og samspillet mellom disse er foreløpig på et tidlig stadium. Forsøk tyder på at fisken er mest sårbar for lav andel EPA+DHA tidlig i livsfasen og at det også på disse tidlige tidspunktene kan ha mer alvorlige konsekvenser for fiskens utvikling. På senere stadier ser det ut til at fisken takler økte planteoljekonsentrasjoner i fôret og at disse til og med kan ha positive effekter når planteoljene er en Rafoamix (Fjelldal et al. 2010).

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

Fettdeponering som symptom på omega-3 mangel – kan laks og ørret utvikle metabolsk syndrom?

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 11) (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 betenneslidelser, hudlidelser m.m.. Hvorvidt dette også kan skje i fisk er relativt ukjent, men enkeltstudier og celforsøk kan tyde på at EPA, DHA og planteråvarer påvirker fettdeponering og betennelsesstatus også i fisk.

Figur 11; Negative konsekvenser av fettlagring

Innvollsfett

Det er vist at nivå av EPA og DHA i fôr kan påvirke mengde innvollsfett i Atlantisk laks (Todorcevic et al., 2008a, Torstensen et al., 2011). *In vitro* forsøk har vist at fettsyrer som det er mye av i planteoljer, som 18:1n-9, kan føre til høyere lipidakkumulering og lavere mitokondriell fettsyre β -oksidasjon i fettceller fra laks sammenlignet med EPA og DHA (Todorcevic et al., 2008b). Videre er det vist at fettceller fra laks har immunfunksjon (Skugor et al., 2010). Tilsetning av bakterielt lipopolysakkarid (LPS) til fettceller fra laks induerte betennelsesfremmende cytokiner som TNF- α samt cytokin reseptor IL-1 β , mens DHA tilsetning til cellene gav økt uttrykk av IL-10, et velkjent anti-inflammatorisk cytokin (Ruyter et al., 2012)

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 et al., 1993, Hainault et al., 1993, Ruzickova et al., 2004, Flachs et al., 2005). 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 stearoyl-CoA-desaturase-1), øker

mitokondriell fettforbrenningskapasitet, reduserer fettsyreopptak i fettceller og er i noen studier vist å indukere fettcelledød (apoptose) (Li et al., 2008).

Økt innvollsfett hos gnagere og folk gir kronisk lavere-grad inflammasjon som har klare negative helseeffekter. Det er sannsynlig at andre fettsyrer, som omega-6 og balansen mellom omega-3 og omega-6 påvirker fettdeponering hos fisk som den er vist å gjøre i gnagere (Alvheim et al 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 et al, 2003, Nanton et al., 2007). Vi har også observert at samspill med andre næringsstoff i fôret sannsynlig samvirker med fettsyrer og påvirker mengden innvollsfett. Når EPA+DHA i fôret var 2,5% med 17 % fiskemel+krillmel og ”gammel” vitamin & mineralmix lagret laksen mer innvollsfett etter 12 mnd i sjø (Torstensen et al 2011). I kontrast til dette, ga 1,4 % EPA+DHA i fôret sammen med 18% fiskemel og Skrettings Microbalance[®], som er tilpasset et lavt fiskemel-fôr, ingen økt mengde innvollsfett, større fettceller eller tegn til kronisk inflammasjon i fettvevet etter 6 mnd i sjø (Rocha 2012, master oppgave NIFES/UiB).

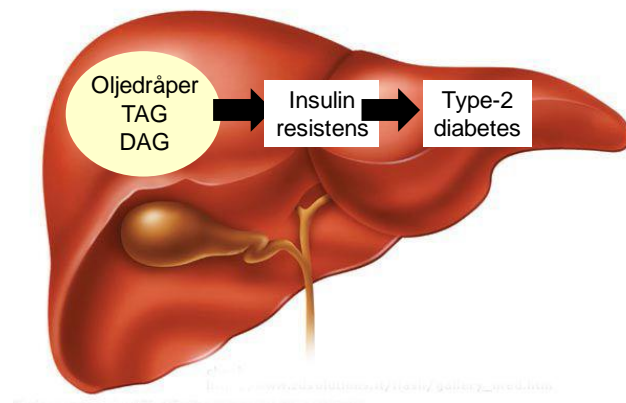
Kunnskap om helseeffekter og motstandsdyktighet mot sykdom ved økt innvollsfett mangler hos laks og ørret. Disse artene lagrer overskuddsfett både rundt indre organer og i muskelen, og hvilke mengder og type lagringsfett som kan gi en lavere-grad kronisk inflammasjon hos laks og ørret bør etableres. Videre er det ikke ennå kjent om triploid laks, tilsvarende som triploid ørret, har økt innvollsfett og om det vil kunne påvirke fiskens helse negativt.

Økt fettdeponering i lever

Økt fettakkumulering i lever kan ha flere mulige årsaker enn ”lipid overload” 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 et al., 1975). En studie av Polakof et al., (2013) har videre vist at økt karbohydrat i fôr og påfølgende økt insulinnivå i blod øker fettsyntese og fettnivå i lever til ørret. Videre har flere studier vist økt fettnivå i lever til laks når fiskeolje erstattes med høye nivå av rapsolje eller mix som inneholder rapsolje i fôret (Liland et al., 2013, Torstensen et al 2011, Mørkøre et al., 2013, FHF rapport), spesielt ved lave vanntemperaturer (Ruyter et al., 2006, Jordal 2007).

I motsetning til studiene over, ble det ikke funnet effekt på fettdeponering i lever til laks gitt et palmeoljerikt fôr (Torstensen et al., 2000, Bell et al., 2002) eller et fôr med 1:1 rapsolje:linfrøolje mix ble benyttet (Tocher et al., 2001). En studie med ørret viste at høye nivå av en rafoamix i fôr (4:2:1, rapsolje:palmeolje:linfrøolje) ikke påvirker opptak, transport og syntese av fett i lever til ørret (Richard et al., 2006). Forskjellen funnet på fettdeponering i lever kan muligens tyde på at det er gunstig å ikke kun erstatte med en type planteolje i fôret, men heller en mix av ulike oljer for å unngå fettlever. Man vet foreløpig lite om eventuell fysiologisk betydning/helseeffekt av økt fettdeponering i lever til laks.

I menneske derimot, kan økt akkumulering av fett i lever sees på som en viktig tidlig risikomarkør for utvikling av metabolsk syndrom (Szczeplaniak, et al., 2005). Økt fettnivå i lever er relativt utbredt, med en forekomst på opptil 36% i den vestlige befolkning, og er forbundet med økt risiko for utvikling av insulinresistens og type 2 diabetes (Weisberg et al., 2003, Xu et al., 2003). Økt fettnivå i lever kan over tid føre til utvikling av NAFLD (non alcoholic fatty liver disease) og gi steatose og skrumplever (Szczeplaniak, et al., 2005).



NAFLD er videre forbundet med oksidativt stress, mitokondriedysfunksjon, økt betennelsesstatus og celledød (Lavoie og Pighon 2012).

Det er økende bevis for at også tarmen i pattedyr kan bidra vesentlig til utviklingen av diett-induserte fettrelaterte lidelser (de

Wit et al., 2008, Drucker et al., 2007). Signalmolekyler fra mage tarm kanalen kan detekteres i leveren og i perifere organer som fettvev, hvor de kan påvirke organfunksjon (Drucker et al., 2007, Field et al., 2010, Jayasena et al., 2008). Eksempler på slike signalmolekyler er gastrisk inhibitorisk polypeptid (Gip), glukagon-lignende peptid-1 (GLP-1) og fibroblast vekstfaktor 19 (Fgf19). Disse faktorene er rapportert å påvirke lipid metabolisme-relaterte prosesser i lever og fettvev (f.eks lipid oksidasjon, lipid lagring og lipolyse) og er koblet til utvikling av fettlever. 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 kan være assosiert med fedme og fettakkumulering (Ley et al., 2010, Musso et al., 2011, Turnbaugh et al., 2009). Hvorvidt forhold i tarmen påvirker fettdeponering i laksefisk er relativt ukjent, for mer informasjon henvises til kapittel om tarmhelse.

Økt fettdeponering rundt hjerte

Overvektige 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 et al, in prep; Frøyse et al, in prep) og videre tendens til økt fettlagring i hjertet når laks er fôret med dagens kommersielle høyfettfôr sammenlignet med et lavfettfôr (Takle et al., 2012, FHF rapport 900457). Rapporten av Takle et al. (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.

Oppsummert kunnskap er at fettsyresammensetning i fôr påvirker fettlagringsmønster hos laks og ørret. Motstridende resultater tyder på at utvikling av fettlever, økt fettlagring rundt hjerte og indre organer styres av mengde EPA+DHA, omega-6, mettet fett i fôret, i samspill med en rekke andre faktorer. Det behov for ny kunnskap om langtidseffekter av lave EPA og DHA nivå i fôr og samspillseffekter med andre fôringredienser og miljøfaktorer.

Hjerte/kar helse

For mennesker er det godt dokumentert at EPA+DHA beskytter mot utvikling av hjerte/kar sykdom, og spesielt beskytter de mot å dø av plutselig hjerteinfarkt. Dagens anbefalinger er at friske folk bør spise 0,25g EPA+DHA daglig for å beskytte mot utvikling av hjerte/kar sykdom, mens folk som allerede har høyt blodtrykk eller forhøyet blodfett (TAG) anbefales så mye som 2-4 g EPA&DHA daglig for å redusere risikofaktorene (EFSA, 2011). I kontrast til mennesker og gnagere er det ikke dokumentert en tilsvarende sammenheng mellom EPA+DHA i fôret og utvikling av hjerte/kar lidelser hos laks eller ørret (Grisdale-Helland et al., 2002; Seierstad et al., 2005; Seierstad et al., 2007). Det er ett studie av Bell og kollegaer (Bell et al., 1993) som viste noe histologiske endringer i hjerter hos 5 av 11 fisk når laks var blitt fôret høy omega-6 diett basert på solsikkeolje i 12 uker fra smolt (85g). I etterkant er det gjennomført studier med stor laks fôret høy omega-6 og moderate EPA+DHA mengder (80-100% soyaolje) (Grisdale-Helland et al, 2002; Frøyse et al, in prep) og moderate omega-6 (rapsolje, olivenolje eller RAFOAmix) og lavt EPA+DHA ned til 0,5 % av fôr, og gjennom hele produksjonssyklus (Seierstad et al., 2005; Seierstad et al., 2007) som alle viser entydig at laks utvikler histologiske endringer i hjerte i økende grad når fisken blir eldre/større, men at innholdet av EPA+DHA i fôret ikke har noen betydning ned til 0,5 %.

Koppang et al (2007) har vist at Atlantisk laks kan utvikle histologiske forandringer i hjerte som ligner det man ser hos folk og gnagere og betegnes som aterosklerose (åreforkalkning). Hans arbeids antyder at de aterosklerose-lignende endringene kan skyldes inflammasjon og oksiderte LDL partikler som hos mennesker. For å studere dette videre ble det i et nylig avsluttet prosjekt (ledet av NIFES) undersøkt av Frøyse og kollegaer ved Norges veterinærhøgskole om mengden fytosteroler eller omega-6 fettsyrer fra ulike planteoljer i fôret kan påvirke utviklingen av histologiske endringer i hjerte når mengden EPA+DHA var 1,4 %. Histologiske undersøkelser viser ingen endringer som kan skyldes fôrets fettsyresammensetning (Frøyse, manuskript in prep; møte abstract).

Det er godt dokumentert at laks utvikler arteriosklerose (stivhet/ redusert elastisitet i arterievegg) men ikke aterosklerose (åreforkalkning/avleiring av kolesterol i blodårene, vanligste årsak til arteriosklerose hos mennesker) 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 høyt (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 høymettet fett vil gi endringer i hjertehistologi som ligner aterosklerose.

Tarmhelse

Foreløpig vet man relativt lite om betydningen av lave nivåer av omega-3 fettsyrer og tarmhelse i laksefisk, men essensiell fettsyremangel er vist å føre til lavere mineral (Na^+) absorpsjon i ørrettarm (Nonnotte et al., 1987). Tarmen er videre vist å være et viktig organ for omsetning av omega-3 fettsyrer i regnbueørret. I ørret på 4-15 gram fant man at 97% katabolisme av 18:3n-3 isotop og at tarmen (blindsekkene) var viktigere enn leveren i denne omsetningen. Kun en lav prosentandel av substratet ble omdannet til DHA (Bell et al., 2001, Bell et al., 2003). Rollen til blindsekkene og tarmen i metabolismen av omega-3 fettsyrer i laksefisk har blitt støttet av genuttrykkstudier som viser at gener involvert i syntesen av n-3 PUFAs, som Δ -6 desaturase, Elov5 og Elov2 er høyt uttrykt i tarmen, fulgt av lever og hjerne (Zheng et al., 2005). Det er også vist økt uttrykk av Δ -6 desaturase gener i tarm til laks føret høye nivåer av planteoljemix (Zheng et al., 2009). I to ulike linjer med regnbueørret, genetisk selektert for ulike mengder muskelfett, fant man økt chylomicron syntese og økt n-3 PUFA syntese i tarm, noe som kan indikere en genetisk predisposisjon for den fete genotypen til å deponere mer gunstige flerumettede fettsyrer (Kamalam et al., 2013).

I flere fiskearter er det påvist økt akkumulering av fett i form av lipiddråper i tarmceller (enterocytter) når fiskeolje er byttet ut med ulike planteoljer; dvs arktisk røye (Olsen et al., 1998, 1999, 2000), regnbueørret Caballero et al., 2002; Olsen et al., 2003) og havabbor (Caballero et al., 2003). En lipiddråpe akkumulering tyder på en endring i tarmcellenes fettomsetning, som muligens gir en ubalanse i fettsyresubstrat for videre lipid og lipoprotein-syntese. Olsen et al (1999, 2000, 2003) viste at transport av fett fra lipiddråper i tarmcellene er avhengig av fosfolipider og mettet fett. Videre viste Ruyter et al (2006) at en diett rik på soyaolje førte til økt fettakkumulering i tarm og spesielt pro-innflammatoriske n-6 fettsyrer akkumulerer ved lave vanntemperaturer (Ruyter et al., 2006). En rekke humane studier har vist at planteoljer rike på n-6 fettsyrer kan være betennelsesfremmende i tarm (Chapkin et al., 2007). I et nylig avsluttet prosjekt (ledet av NIFES) ble det ikke påvist noen økning av inflammasjonsmarkører i midttarm fra laks føret med 1,4 % EPA+DHA i føret sammen med enten høy enumettet fett eller omega-6 i 6 mnd (Torfinn Moldal, VI & Koppang, NVHS et al, in prep). Dessverre var tarmsegmentene for påvisning av lipidakkumulering i tarm for dårlige

til histologiske analyser, så vi vet ikke ennå om grunnen til at gruppene ikke viste endringer i inflammasjon var på grunn av at det ikke var forskjeller i fettakkumulering i tarmcellene.

I laks som spiste fôr som inneholdt ned til 0,5% EPA+DHA i fôret sammen med Rafoa planteoljemix (samme forsøk som publisert i Torstensen et al 2005) er det vist lavere tarmcelleutskifting ved histologi og lavere uttrykk av visse gener relatert til stress og antioksidantnivå med planteoljemix i fôret (Olsvik et al., 2007). Det er ikke entydig om en slik endring er negativ for laksens helse og velferd.

Oppsummert er det ikke vist klart om fettakkumulering i tarmceller induserer negative effekter på inflammasjon i tarm som igjen kan påvirke fiskens helse og velferd. Det kan også tenkes at fettakkumulering som ikke er kronisk, men som avtar over tid etter et måltid ikke har negative helseeffekter for fisken. Kunnskap bør fremskaffes som viser om fettakkumulering i tarmceller indusert av endret fettsyresammensetning i fôret gir negative konsekvenser for fiskens helse, og hvilke minimumsnivå av EPA+DHA som er optimale for god tarmhelse.



Foto: Helge Skodvin

Mikrobiota hos laksefisk

Fiskehelsen er nøye regulert av førsammensetning og tarmflora. Tarmfloraen hos fisk kan bestå av opp til 10^7 - 10^{11} bakterier/g tarminnhold (Nayak 2010), og bidrar med viktige funksjoner som næringsopptak, utvikling av tarmepitelen og immunitet, og xenobiotisk metabolisme (Bates et al 2006; Rawls et al 2004). Noen bakterier kan også medføre utbrudd av sykdom. Probiotiske bakterier og prebiotika kan benyttes inn i fiskefôr for å oppnå positive helseeffekter, via direkte eller indirekte modulering av tarmfloraen. Kunnskapen om bakteriesammensetningen i fisketarm er dog kontroversiell, da de fleste tidligere studier har blitt utført med dyrkningsbaserte teknikker, som har vist seg å kunne være veldig unøyaktige, og må tas med forbehold. Det er foreløpig et begrenset antall studier på tarmflora i laksefisk basert på DNA fingerprinting analyser (Pond et al 2006; Kim 2007, Hovda et al 2007, 2012; Liu et al 2008; Navarette et al 2009, 2010, 2012; Mansfield 2010, Desai 2012). En norsk studie viser dominans av *Lactobacillus spp.*, *Lactococcus sp.*, *Bacillus sp.*, *Photobacterium phosphoreum*, *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas sp.* og *Vibrio sp* (Hovda et al 2007) i atlantisk laks. Faktorene som påvirker bakteriesammensetningen er ikke fullstendig klar, og det er i dag lite kunnskap om hvilke effekter plantebasert fôr har på tarmflora og fiskehelse. Det er nylig blitt publisert to studier hvor dette har blitt adressert i regnbuerørret med dyrkningsuavhengige teknikker (Desai et al 2012; Navarette et al 2012). Førstnevnte har studerte effekten av diett inneholdende planteingredienser (erter, soyabønner og raps), hvilket resulterte i et høyere Firmicutes:Proteobacteria forhold sammenlignet med kontrollen (fiskefôr). De konkluderte med at tarmfloraen delvis kan være årsak til den negative påvirkningen av plantebaserte dietten. Navarette et al (2012) påviste at en plantebasert diett (proteiner eller oljer) medførte redusert bakteriediversitet, og at ulike familier responderte forskjellig. Antibakteriell effekt av fettsyrene i rapsoljen kunne være en årsak til redusert diversitet med planteoljediett, mens årsaken til reduksjon med planteprotein var mer usikker.

Det dokumenteres stadig flere sammenhenger mellom diett, tarmflora og human helse. 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 metodene, som også kan gi informasjon om de ikke-dominerende bakteriene, hvor betydningen for fiskehelsen er uavklart.

Stress

Det er allment akseptert at fisk reagerer på stress på lignende måter som landlevende dyr (Wendelaar Bonga, 1997; Tort et al., 2004). Stressfaktorer i akvakultur inkluderer alt fra fysisk håndtering, høy fisketetthet 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 infeksjøs 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 *et al.*, 2011).

I jakten på nye fettressurser kan ubalansert fettsyresammensetning, fytosteroler, antinæringsstoffer og forurensninger ha en negativ innvirkning på fiskens stressfysiologi og helse (Montero & Izquierdo 2010). Fra eldre litteratur er det rapportert såkalt «shock syndrome» hos regnbueørret etter mangel på EPA+DHA og alfa-linolensyre (18:3n-3) i fôret (review av Tacon, 1992). Grunnen til dette ligger nok i ustabile cellemembraner og oksidasjonskader i hjerne- og nervevev, selv om hjernevev påvirkes lite av fôrets fettsyrer sammenlignet med andre vev (Bell et al., 1991; Brodtkorb et al., 1997). Diettene brukt i disse forsøkene hadde også et høyt innhold av n-6 (se diskusjon i kapittel om omega-3 behov i ferskvannsfasen), og hjernens innhold av n-6 påvirkes av fôret i større grad enn for n-3 (Bell et al. 1991; Amlund et al, 2012), dermed kan økt n-6 i hjernens membraner være en alternativ forklaring. Cellemembranens fettsyresammensetning som påvirkes gjennom fôret kan igjen påvirke stressresponsen som substrat for eikosanoidsyntese (Bell et al., 1991; 1997; Olsen et al., 2012). Det ser ut til at reaksjonen på for eksempel transportstress kan knyttes til balansen mellom n-3 og n-6 fettsyrer (Bell *et al.*, 1991). Hos laks gitt soyaolje (rik på n-6) i fôret så man forhøyete kortisolnivå i forbindelse med lysmanipulert smoltifisering (Jutfelt et al., 1997). Laks har normalt endringer i nivå av kortisol og arakidonsyre (ARA, 20:4 n-6) i vevene rundt smoltifisering noe som er knyttet opp mot eikosanoidenes roller blant annet i osmoregulering (Bell & Sargent 2003; Bell et al., 1997). Ved bruk av planteoljer dekkes behovet for ARA gjennom høye nivå av 18:2 n-6, men man kan også ende ut med suboptimalt

forhold mellom n-3 og n-6 fettsyrer. I et forsøk med laks i sjøvannsfasen så man en forsinket økning av kortisol i plasma etter håndteringstress hos fisk fôret med soyaolje sammenlignet med fiske-, raps- eller olivenolje (Sissener et al, in prep). Der de andre gruppene fikk redusert plasma kortisol etter 24 timer hadde soyaoljefôret laks fremdeles økende kortisolnivåer, noe som tyder på at høy omega-6 i soyaoljefôret laks endrer fiskens stressmestringsevne (Sissener et al, in prep).

Stressmestring ble undersøkt i et fôringsforsøk hvor marine råvarer ble byttet ut med vegetabiliske protein- og fettkilder (Oxley et al., 2010). Fisk fôret med 80% planteprotein og 70 % planteolje (2,5 % EPA+DHA i fôret) hadde økte plasma kloridverdier og økt uttrykk av et enzym i tarm som omdanner ARA til prostaglandiner (en type eikosanoider) i tarmen etter stress, noe som tilsier osmotisk ubalanse og proinflammatoriske forhold i tarmen. Tarmen er første barriere for stressfaktorer fra fôr, og undersøkelser av tarmcellene og av lokal inflammasjon kan brukes som tidlige indikatorer for toksikologisk stress (Berntssen et al., 2004). Studier med laks viser at tarmen responderer etter fysisk stress med reduksjon i eikosanoider, i hovedsak de som syntetiseres fra n-6 fettsyrer (Olsen et al., 2012). Hos marine fiskelarver ser man økt overlevelse etter lufteksponering og bedre mestring av temperatursjokk etter fôring med økte nivå av EPA, DHA og AA (review av Montero & Izquierdo 2010). 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. Foreløpige resultater tyder på at stor laks fôret med lave nivåer av EPA+DHA har endret stressrespons ved lav vanntemperatur (Sissener et al, unpublished results). Dette undersøkes videre i prosjektet som er ledet av Skretting ARC.

Dagens kunnskap om effekten av fettsyresammensetning på stressmestring er vag, selv om studiene så langt tyder på at fettsyrene kan påvirke stressrespons og fiskens akklimatisering etter stress, sannsynligvis gjennom cellemembranens fysiske integritet, eikosanoidsyntese og hormonkontroll. Det er behov for å etablere hvor lave nivåer av EPA og DHA, og kanskje spesielt hvor høye nivåer av n-6 fettsyrer som påvirker ulike typer stress og fiskens evne til å håndtere stress.

DEL 2; Samspill mellom fettsyresammensetning i fôr og andre faktorer komponenter i oljekilden

Helseeffekter av andre komponenter i fiskeolje og planteoljer, som kolesterol, fytosteroler, antioksidanter

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). Effekter av fytosteroler på laks og ørret er ikke godt undersøkt, men en har sett effekter på blodverdier og det endokrine system i fisk når fytosteroler er tilført gjennom vannet (Tremblay og Van Der Kraak, 1998) eller gjennom et implantat i bukhulen (Gilman et al. 2003). I fôringsforsøk på Atlantisk laks har en sett at om der er så mye som 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 et al. 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 grunnet et kolesterolunderskudd på grunn av fytosterolenes hemmende effekt på kolesterolopptaket 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 et al. 2002). Resultatene er allikevel ikke entydige, og samvarierende faktorer i fôringsforsøket utført av Liland et al. (2013) og i annet foreløpig upublisert materiale hvor en ser samme tendenser gjør at mer spesifikke forsøk må utføres for å finne ut av fytosterolenes rolle og mekanismene bak disse 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.

Samspill med andre næringsstoff i fôr

Fiskens diett består både av protein-, fett og karbohydratkilder, foruten ekstra tilsetninger av mikronæringsstoff. Derved kan andre næringsstoff samspile med fettkilden og påvirke absorpsjon og omsetning av fettsyrer og *vica versa*. Fettkildene kan også være mer eller mindre raffinert, noe som påvirker innholdet av både fettsyrer og andre fettløselige forbindelser og derved egenskapene til disse. En aktuell problemstilling som illustrerer dette er dekontaminering av fiskeoljer, hvor innholdet av fettløselige vitaminer (Berntssen et al., 2006) og de langkjedete fettsyrene endres (Pratoomyot et al., 2008), eller forblir uendret (Olli et al., 2010) antagelig avhengig av raffineringmetode. De ulike plantefettkildene prosesseres og raffineres på sine vis og flere produkter er aktuelle i fôr til fisk. Man kan forvente at mindre raffinerte produkter blir brukt i fremtidens fôr og da er det viktig å ha kontroll over innhold utover fettsyresammensetningen, som blant annet innhold av andre næringsstoff, antinæringsstoff, kontaminanter og oksidasjonsstatus.

Generelt er fettkilder godt fordøyelige, selv om fordøyeligheten kan variere en del mellom visse typer fettkilder og deres karakteristiske innhold av fettklasser og fettsyrer (Bell & Koppe 2011). Andre fôrkomponenter, som karbohydrater, kan påvirke fordøyeligheten gjennom å påvirke viskositet og micelledannelse i tarmen. Antinæringsstoffer som saponin som finnes i mindre raffinerte soyaproteinkilder (Knudsen et al., 2007), chitin og chitosan fra krillmel (Olsen et al. 2006), samt høyt innhold av mineraler som kan gi såpedannelse i tarmen, kan også redusere fordøyeligheten av fett. Fettfordøyeligheten ble også redusert i dekontaminert fiskeolje.

Avhengig av raffineringsgrad så bidrar proteinkildene også med en begrenset mengde fett. For marine proteinkilder (fiskemel, marine biproduktmel, krillmel etc) er dette en kalkulert fordel siden fett er fortrinnsvis membranlipider som inneholder en høy andel marine n-3 fettsyrer. Med endringer både i protein og fettkilder kan man risikere å komme til kort med fordelaktige næringskomponenter som de tradisjonelle marine fôrmidlene bidro med. På den annen side bidrar planteoljer med flere vitamin E former (herunder tokoferoler og tokotrienoler) og

karotenoider som bidrar som antioksidanter til å holde lav oksidativ status i fôr og fisk (Olsvik et al., 2011).

Noen studier har undersøkt interaksjon mellom fettkilder og mikronæringsstoffer. Dette er knyttet til fettsyrenes roller i energiomsetning, membransammensetning og funksjon, og redoks-reaksjoner (pro- og antioksidanter). Hos laks som gjennom produksjonssyklus (vekst fra 30 g til 400 g, og videre gjennom kjønnsmodning) ble gitt plantebasert fôr (29% soyaprotein konsentrat, 16% hvete og 33% FM) med tre nivå av EPA+DHA gitt i form av 16% tilsatt soya-, lodde- og sardinolje og to nivå av vitamin E (~50 og 270 mg kg⁻¹) ble det ikke funnet forskjeller i vekst (Waagbø et al., 1991), men i status av andre næringsstoff, fiskens immunologi og sykdomsmotstand, sensorisk kvalitet og utfall av reproduksjon. Forsøket ble gjort med lav-energidietter (16% fett) sammenlignet med dagens relevante kommersielle fôr, men som eksempler for hvilke samspilleffekter man kan forvente også med dagens fôr er de vist i Tabell 1.

Tabell 1. Biologiske områder der ulike fettkilder (soya-, lodde- og sardinolje med lav-energifôr (16% fett)) har vist å spille en rolle alene eller i interaksjon med vitamin E i fôret (~50 og 270 mg α -tokoferol kg⁻¹)

Biologisk effekt av fettkilde	Fettkilde m/ Økende n-3	Vitamin E	Referanse
Sinkstatus i ulike organ	0	(+)	Maage & Waagbø 1990
Selenstatus i ulike organ	-	-	Maage & Waagbø 1990
Jernstatus i ulike organ	(-)	(-)	Waagbø & Maage 1992
Lever vitamin E status	-	+	Waagbø et al. 1993b
Lever vitamin A status	+	(+)	Waagbø et al. 1993b
Muskel astaxanthin	(+)	(+)	Christiansen et al. 1993
Antistoff etter vaksinasjon /koagulasjonstid	-	+	Waagbø et al. 1993a
Hematologi	0	0	Waagbø et al. 1993a
Makrofagaktivitet 12°C/18 °C	0/0	(+)	Waagbø et al. 1993b
Dødelighet etter <i>V. salmonicida</i> smitte 7°C/13 °C	+/0	+/0	Waagbø et al. 1993b
Sensorisk kvalitet	(-)	+	Waagbø et al. 1993c
Egg- og yngelkvalitet	+	+	Waagbø & Rønnestad 2001

Med relevante fôrenergivå, er det rapportert at laksens fettlagringsmøster (Torstensen et al 2011), helseparametre (Torstensen et al 2011; Liland et al 2013) og antioksidant status (Olsvik et al 2011) ble påvirket når både fiskemel og fiskeolje ble byttet ut med

planteproteinkilder og vegetabiliske oljer uten at vitamin og mineralmixen ble oppjustert gjennom hele sjøvannsfasen. En av forklaringsmodellene for den signifikante økningen i fett i blod, lever og rundt indre organ var at vitamin og mineral mengdene (basert på NRC 1993; 2007) ikke var tilstrekkelig når mengden fiskemel og fiskeolje var kun henholdsvis 20% og 30% av protein og fett i fôret (Torstensen et al 2008; 2011; Liland et al 2013). Denne hypotesen er ytterligere styrket ved at laks som ble fôret med 30% fiskemel sammen med 20% fiskeolje (% av protein og fett i fôret) men med en oppjustert vitamin mineralmix (Skrettings Microbalance®) ikke hadde de samme endringene i fettlagring rundt indre organ (Liland et al 2013, in prep; Rocha master thesis). Ernæringsbehov er etablert i hovedsak for lavere vekst med lav-energi dietter, kun i ferskvannsfasen eller ekstrapolert fra ørret til laks (NRC, 1993;2007) og nyere forskning viser behovet for å revurdere etablerte minimumsbehov for kommersielt relevante oppdrettsarter (Arraina, EU-finansiert prosjekt 2011-2016).

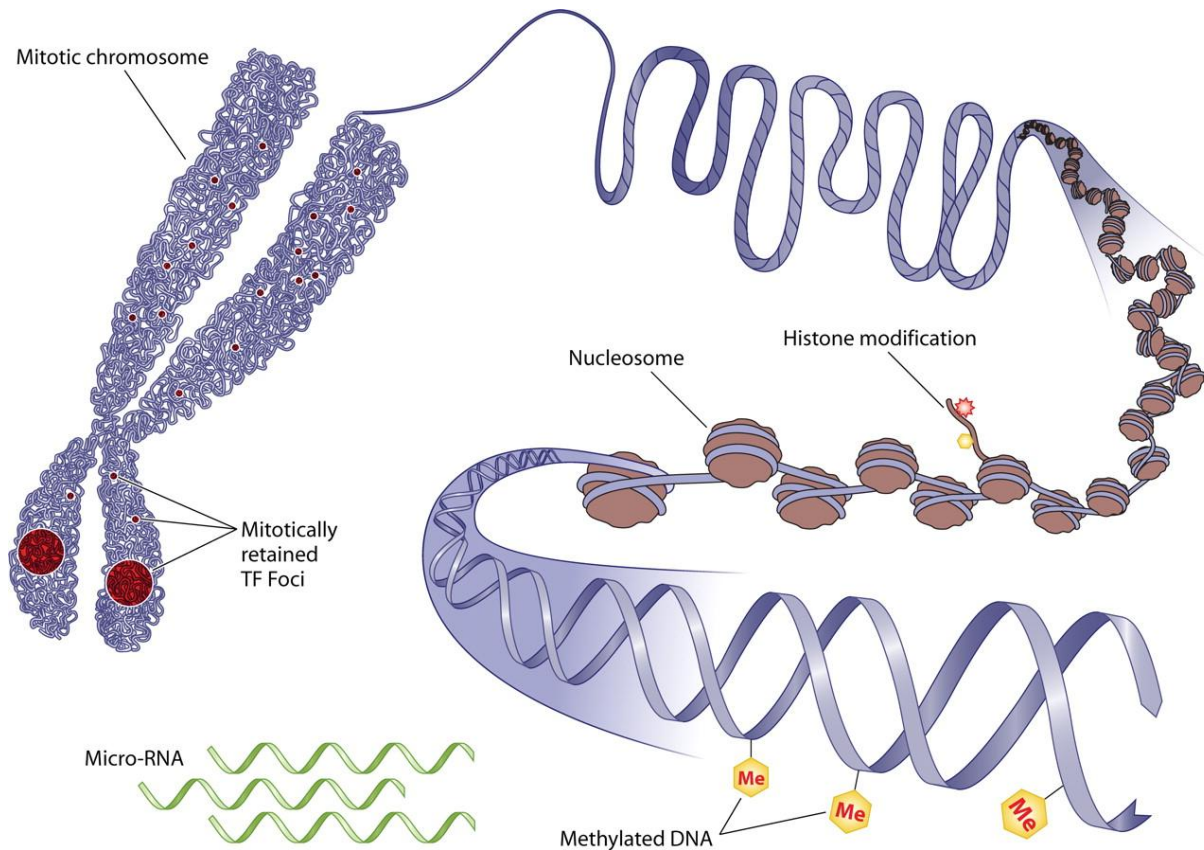
Oppsummert vet vi at fettkilder med sine variable og unike sammensetninger viser interaksjoner på flere områder og dette må tas hensyn til i sammensetningen av fremtidens fôr. Minimumsbehov for EPA og DHA, øvre grense for omega-6 og optimal mengde mettett fett må bestemmes i sammenheng med mineraler, vitaminer og andre fettløslige komponenter i fôr til Atlantisk laks.

Arvbare miljøeffekter - epigenetikk

Det finnes en rekke studier 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 et al. 1997; Tocher et al., 2000; Leaver et al., 2011). Vi vet lite om hvordan fôr i tidligste livsfaser kan ernæringsmessig programmere laksens fettsyremetabolisme, inkludert omega-3 fettsyremetabolismen og helse i senere livsfaser.. Det er begrenset kunnskap om betydningen av arvbar miljøpåvirkning (epigenetikk), fôrets fettsyresammensetningen, og andre miljøforhold

Epigenetikk er arvbare endringer i genuttrykk som ikke skyldes endring i DNA sekvens. DNA metylering, kromatin organisering og regulering ved små RNA molekyler, er hovedkilden til epigenetisk informasjon. Epigenetisk regulering er sensitiv for ulike miljøforhold, med ernæring som en av de viktigste faktorene (Olynik et al., 2012). DNA metylering avhenger av tilgjengeligheten av mange ulike næringsstoffer, og feilernæring kan føre til økt mottakelighet for sykdom og feilutvikling. På cellenivå påvirker næringsstoffer stamcelledeterminering,

differensiering og proliferering, og dermed utvikling av vevsstrukturer og organogenese (Trzeciakiewicz et al., 2009; Dwyer et al., 1994;1993; Powell 1981). 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, et al. 2013). Det finnes ikke studier på dette i laks.



<http://mcb.asm.org/content/30/20/4758/F1.expansion.html>

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 et al., 2001). Fettsyresammensetning av egg har en stor effekt på embryoutvikling, metamorfose og overlevelse etter klekking i ulike fiskearter (Pickova et al, 1997, 1999, 2007). Det er vist til behov for essensielle fettsyrer (EPA og DHA) i stamfisk til flere fiskearter (Watanabe et al, 1984, Pickova et al, 2007, Watanabe og Vassallo-Agius 2003, Cerda et al, 1995,), men hittil har man relativt begrenset kunnskap om hvordan lave nivå av omega-3

fettsyrer påvirker gonade utvikling og egg- og larvekvalitet i laksefisk. Utilstrekkelig mengde EPA og DHA i membranstrukturer ved lave temperaturer kan medføre skade for organismen når membranfluiditeten ikke kan kompensere for metabolsk ineffektivitet (Hurst et al. 2007). Det er manglende informasjon om hvordan samspill mellom faktorer som temperatur og EPA og DHA nivå i membraner påvirker klekking og overlevelse etter klekking. Laks har høye vekstrater i tidlige vekstfaser (Terjesen et al, 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.

Tidlige livsfaser er spesielt sårbare for laks og ørret, da EPA og DHA er viktig for mange prosesser, 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 eicosanoider, noe som er spesielt viktig for utvikling og vekst av fiskeembryo (Sargent 1995, Bell et al., 1997). Under larvestadiet er EPA+DHA mangel i andre arter vist å medføre feilpigmentering, synshemming, og avvikende adferd ved ulike larvestadier (Copeman et al., 2002, Penney et al., 2006, Yanes-Roca et al., 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 et al. 1997; Tocher et al., 2000). Vegetabilsk olje og dermed mer omega-6 i laksens diett under smoltifisering er vist å ha flere positive effekter; bedret osmoregulatorisk kapasitet (Bell et al., 1997, Tocher et al., 2000), økt vekst (Bendiksen et al., 2003), og fremmer beskyttende barriere mot patogener (Jutfelt et al., 2007). I tillegg er endringer i fôrsammensetningen av EPA og DHA vist å påvirke tilpasningen til endring i salinitet hos ørret (Di Constanzo et al., 1983). Det er imidlertid begrenset kunnskap om hvilke fettsyresammensetninger i dietten som er best egnet under de ulike trinn av smoltifiseringen for økt EPA og DHA syntesekapasitet og bedre overlevelse etter smoltifisering.

Det er klare indikasjoner om at ernæring er en viktig faktor for epigenetisk regulering i laks som kan øke eller begrense tap i produksjon. Det er behov for kunnskap om laksens behov for EPA og DHA, mettet fett og omega-6 i ulike og spesielt i sårbare livsfaser.

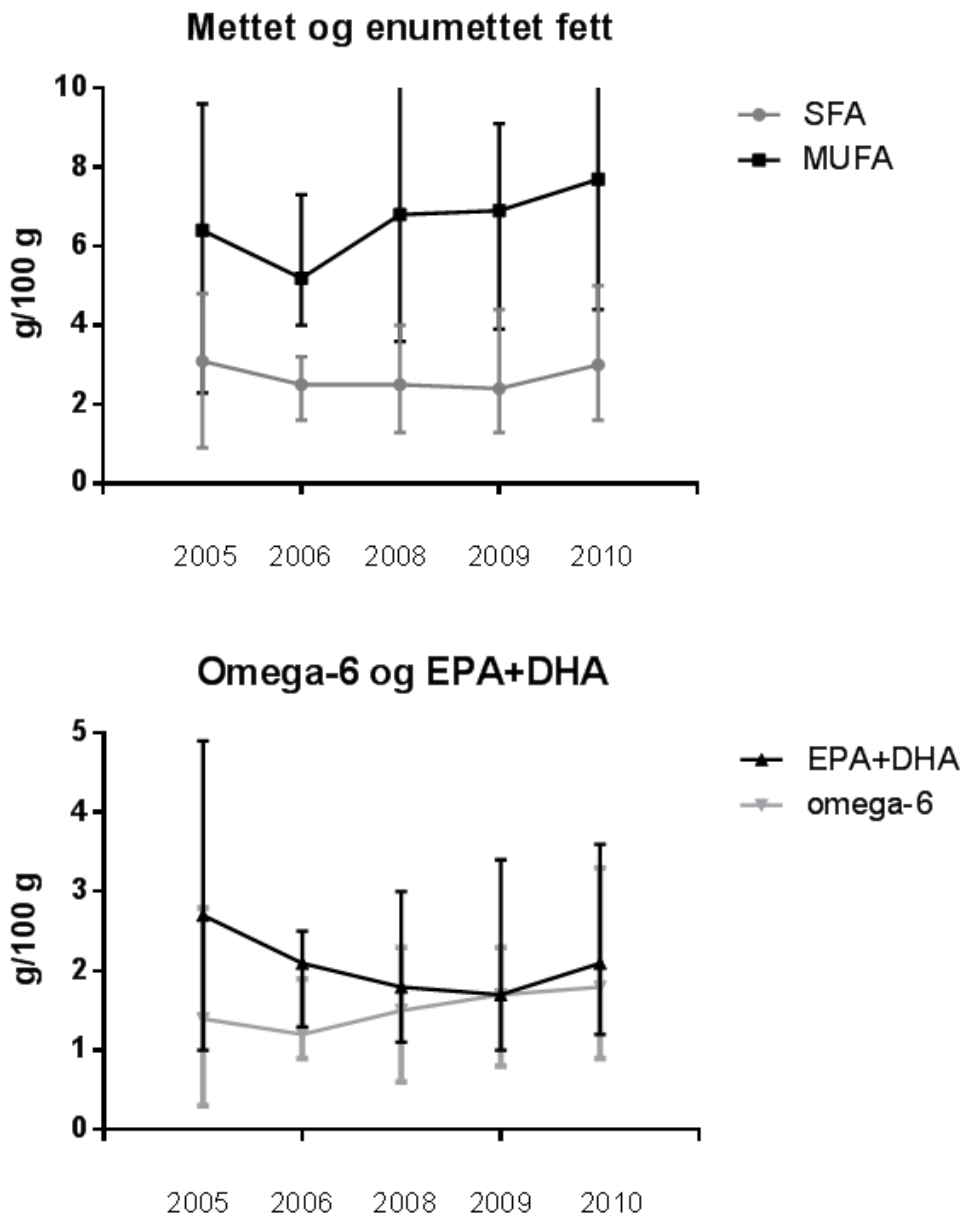
DEL 3; Hvordan påvirker endringer av fett i fôr mengden i spiselig del

Når nivå 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 laks og ørrets minimumsbehov for EPA+DHA skal bestemmes er det avgjørende hva fiskeoljen erstattes med siden alle fettsyrer i ulik grad kan påvirke fiskens vekst, helse, velferd og sammensetning av spiselig del (se figur 12).

Karakteristisk for de alternative oljene som er relevante å bruke i dag, er at fettsyresammensetningen domineres av få fettsyrer (Tabell 2). Av vegetabilske alternativ inneholder rapsolje hovedsakelig en enumettet fettsyre (18:1n-9; oljesyre), 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), soyaolje 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.

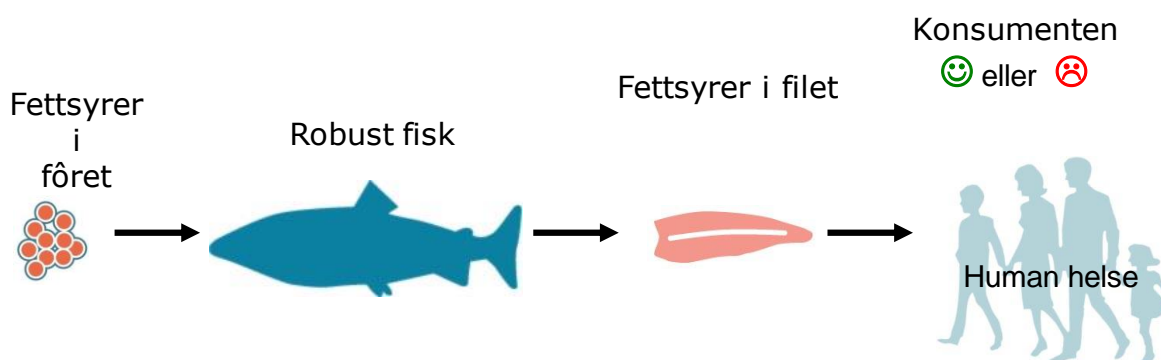
Tabell 2. Fettsyresammensetning av forskjellige oljer (vekt%). Tre eksempler på marine oljer finnes til venstre i tabellen, og eksempler på vegetabilske oljer som er aktuelle for bruk i fôr til laks og ørret til høyre. De viktigste individuelle fettsyrene er tatt med, samt sum mettede, enumettede (MUFA), omega-6 og omega-3 fettsyrer, og tilslutt n-3/n-6 ratio.

	Lodde- olje	Sardin- olje	Krill- olje	Soya- olje	Oliven- olje	Solsikke- olje	Linfrø- olje	Palme- olje	Mais- olje	Raps- olje
14:0	6.3	7.2	16.3	-	-	0.1	0.1	1.1	-	0.1
16:0	11.0	16.2	19.0	10.9	11.8	6.3	5.3	40.0	10.3	4.7
18:0	0.9	2.9	1.4	3.9	2.5	4.9	3.2	4.1	1.8	1.6
Mettede	18.9	27.3	38.6	15.6	14.7	12.3	8.6	45.2	12.5	7.5
18:1n-7	1.9	3.1	7.8	1.3	2.2	0.7	0.7	-	0.6	3.0
18:1n-9	6.7	9.3	15.8	21.9	71.4	23.0	17.1	41.1	31.1	56.7
20:1n-9	15.9	1.5	1.4	-	0.3	0.2	-	-	0.2	1.7
22:1n-11	20.2	0.9	0.3	-	-	-	-	-	-	-
MUFA	56.5	25.4	38.1	23.3	75.0	23.9	17.8	41.1	32.0	62.2
18:2n-6	1.3	1.1	1.6	54.3	9.5	62.5	14.3	10.8	54.1	19.5
20:4n-6	-	0.8	0.1	-	-	-	-	-	-	-
sum n-6	1.3	1.9	2.1	54.3	9.5	62.5	14.3	10.8	54.1	19.6
18:3n-3	0.7	0.6	0.8	6.5	0.7	0.5	57.0	-	1.3	9.4
18:4n-3	4.8	3.2	3.6	-	-	-	-	-	-	-
20:5n-3	7.5	18.4	6.4	-	-	-	-	-	-	-
22:5n-3	0.6	2.2	0.2	-	-	-	-	-	-	-
22:6n-3	5.7	12.3	2.3	-	-	-	-	-	-	-
sum n-3	19.8	37.7	14.6	6.5	0.7	0.5	57.0	-	1.3	9.4
n-3/n-6	15.2	19.5	7.0	0.1	0.1	0.0	4.0	-	0.0	0.5



Figur 12. Figuren viser innhold av henholdsvis mettet fett (SFA), enumettet fett (MUFA), EPA+DHA og omega-6 i g/100g filet (spredningen viser minimums- og maksimumsverdi) i norsk oppdrettslaks fra årene 2005-2010. 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. Helsedirektoratet anbefaler at mettet fett ikke skal overstige 10 energiprosent per dag, noe som tilsvarer ca 20g ved et inntak på 2000kcal, mens 100g oppdrettslaks bidrar med 2.5-3g. EFSA anbefaler et daglig inntak av EPA+DHA på 0.25g per dag, mens 100g oppdrettslaks i 2011 bidrar med rundt 1,5g. 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”



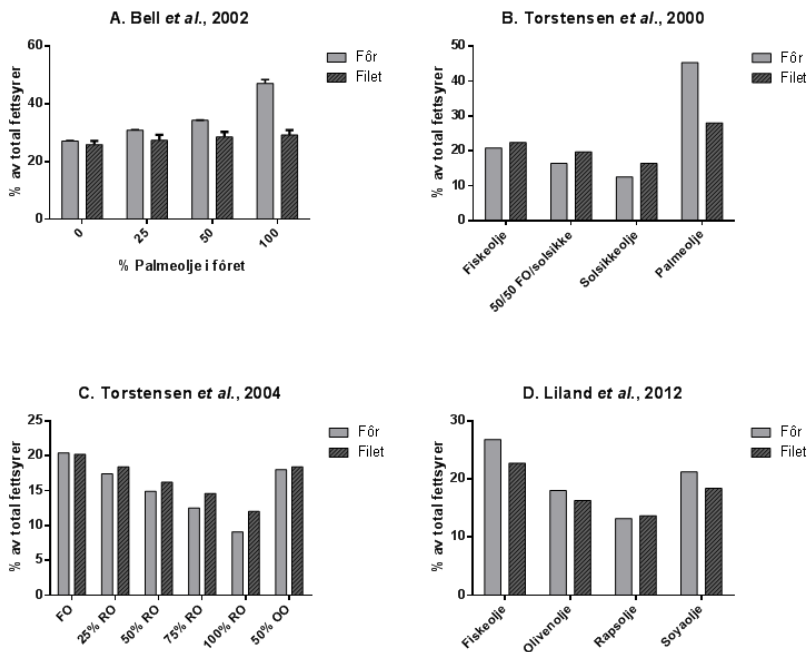
For noen fettsyrer, men ikke alle

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 %), kokosolje og animalske biprodukter som f. eks kyllingolje (28-30 %). 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 fileten, 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 13), vil innhold i laksefilet ikke øke eller øke svært lite (Torstensen *et al.*, 2000, Bell *et al.*, 2002). Dersom andelen i fôr reduseres sammenlignet med en diett basert på FO, vil andelen i fileten også reduseres (Bell *et al.*, 2001, Bell *et al.*, 2004, Torstensen *et al.*, 2004, Liland *et al.*, 2013). 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 13. Mettet fett i henholdsvis fôr og filet fra ulike forsøk. Forsøk A og B er eksempler på hvordan andel mettet fett i filet 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 filet reduseres når andelen går ned i fôret. Resultater for diett med 100 % fiskeolje av tilsatt olje vises helt til venstre på alle fire figurene.

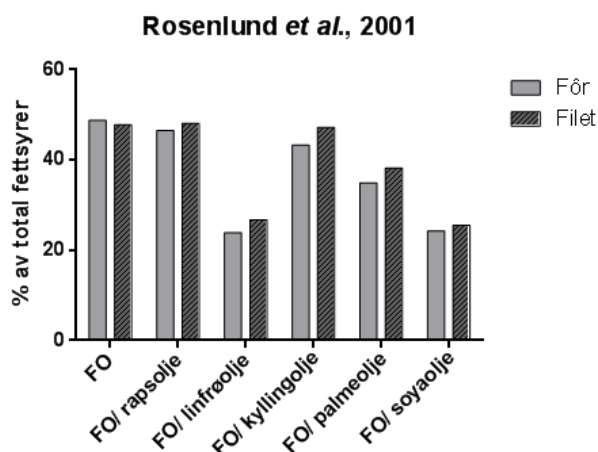
En fordel med bruk av mettet fett er at dette regnes som ”nøytralt” i forhold til n-3/n-6 ratio, og selv om mettet fett har et (noe ufortjent?) dårlig rykte i forhold til human ernæring, vil laks uansett være en svært liten bidragsyter i et sammensatt kosthold (se figur 11). Et relativt nytt aspekt i 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 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 et al, 1987, Sigurgisladottir *et al.*, 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. Her finnes det lite publiserte data fra forsøk, men det ser ut til at fordøyeligheten av mettet fett blir dårligere dess mer det er i fôret, dess lavere temperaturen er, og med økende kjedelengde (Torstensen *et al.*, 2000, Ng *et al.*, 2004, Johnsen *et al.*, 2006).

Det er usikkert om en stor reduksjon av mettet fett i fôret har noen konsekvenser for fisken og dens helse, og i så fall hvor lavt ned det er forsvarlig å gå. Fettakkumulering er en sammensatt problemstilling som nok kan ha flere årsaker (se ”Fettlagring”), men vi har i to nylige forsøk sett en svært god korrelasjon mellom fettmengde i lever og mettet fett i fôret (Liland *et. al.*, in press, Liland *et. al.* in prep). Imidlertid var fettlagring også svært godt korrelert med fytosteroler i fôret (se ”Andre komponenter i oljekilden”), slik at her er det flere mulige forklaringer.

Det er behov for kunnskap om konsekvensene av en kraftig reduksjon i mettet fett for fiskens helse, samt å definere et ”optimalt vindu” for innhold av mettet fett som tar hensyn til en øvre grense for fordøyelighet og en nedre grense for fiskens helse.

Enumettet fett

Det finnes enumettet fett i ulike FO (28-53 %), i stor grad langkjedede fettsyrer med 20-24 karbonatomer (Johnsen *et al.*, 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 *et al.* (2001, Figure 14).

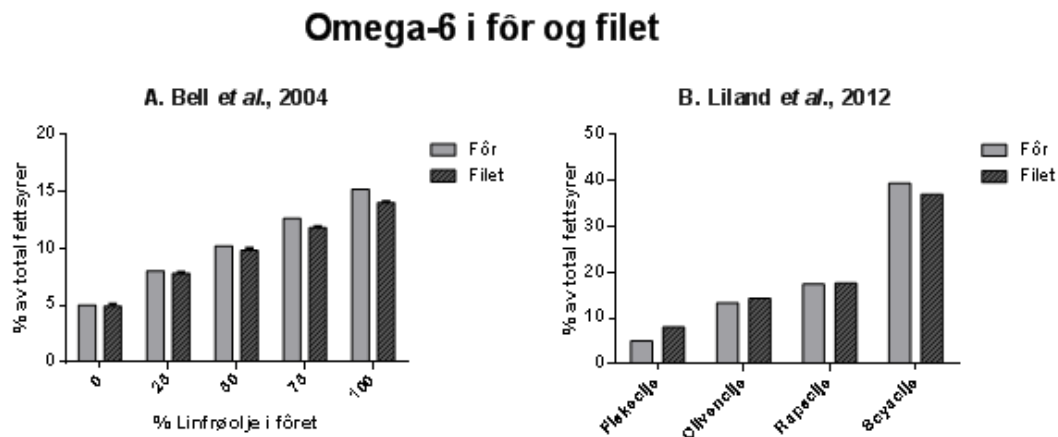


Figur 14. Enumettet fett i henholdsvis fôr og filet med ulike dietter basert på fiskeolje (FO) fra lodde og blandinger av fiskeolje med ulike planteoljer og kyllingolje.

Fordøyelighet av enumettede fettsyrer er generelt høy (>90%), også ved lave temperaturer (Ng *et al.*, 2004), men ikke like høy som for flerumettede fettsyrer (Johnsen *et al.*, 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 ansees som positivt i forhold til human ernæring.

Omega-6

Fiskeolje har lite omega-6 (<5 %), mens innholdet av omega-6 i planteoljer varierer mye; soya-, mais- og konvensjonell solsikkeolje har høyt innhold, mens raps-, oliven-, linfrø- og palmeolje er i andre enden av skalaen (se tabell 2). Innhold av omega-6 i fôret gjenspeiles i stor grad i fileten (se eksempler i Figur 15).



Figur 15. 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 *et al.*, 2006, Sigurgisladottir *et al.*, 1992).

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. Et nylig studie konkluderte med at dette ikke var tilfelle hos regnbueørret (Emery *et al.*, 2013). Dessverre var omega-6 innholdet i diettene som ble brukt var ikke spesielt høyt med en ALA/LA ratio på henholdsvis 1,9 og 0,6 (Emery *et al.*, 2013), noe som er en veldig høy ratio sammenlignet med ratioen på 0,25 som er antydnet hos gnagere og folk å være max ratio for at omega-3 skal bli utkonkurrert av omega-6.

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 et al., 2013, Midtbø et al., 2013).

Det er behov for kunnskap om øverste tolerable mengde av omega-6 i fôr til laks både av hensyn til laksens fôrinntak, vekst, helse og velferd og av hensyn til filetens bidrag av omega-6 til et kosthold og betydningen av hvilken effekt det å spise laks vil ha på folks helse når omega-6 bidraget øker i forhold til bidraget av omega-3.

Forholdet mellom omega-3 og omega-6

Både for folk og fisk er det mengden EPA+DHA som er i kroppen som er avgjørende for helsen, ikke kun hvor mye EPA+DHA som spises i mat eller fôr. Årsaken til at det ikke alltid er en direkte sammenheng mellom EPA+DHA i fôret og hva som finnes i fisken er flere, men hos folk er konkurransen mellom omega-3 og omega-6 om plassene i fosfolipidene en helt sentral faktor. 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 et al 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.

Fôringsforsøk med laks der mengde EPA+DHA er holdt konstant, men n-3/n-6 ratio er forskjellig viser at mengden EPA+DHA i filet (som er hovedsakelig lagringsfett) er konstant (Liland et al 2013). Mengde EPA+DHA i fosfolipidene i cellemembraner var ikke målt i forsøket (Liland et al 2013).



Omega-3 og omega-6 konkurrerer også om de samme enzymsystemene i syntesen av lange flerumettede fettsyrer fra 18:2n-6 og 18:3n-3. I gnagere er det vist at når mengden 18:2n-6 i fôr er lavt (1 energi%) omdanner mus effektivt 18:3n-3 til EPA og DHA, mens når nivået av 18:2n-6 er høyt (8 energi%) produseres 20:4n-6, men ikke EPA og DHA (Alvheim et al, 2012). Hos fisk er forsøk gjort enten med høy 18:2n-6 (soyaolje) eller høy 18:3n-3 (linfrøolje) som viser at høy 18:2n-6 gir økt 20:4n-6 i filet (Liland et al 2013) og hjerne (Amlund et al 2012) og høy 18:3n-3 gir økt EPA og DHA i filet (Zheng et al 2005). Forsøk med lik og tilstrekkelig mengde 18:3n-3 med tilstrekkelig høy og lav 18:2n-6 er ikke publisert for laks eller ørret slik at dokumentasjon mangler for hva som er optimal n-3/n-6 ratio for maksimal omdanning av 18:3n-3 til EPA og DHA. I et forsøk med Atlantisk laks (Ruyter et al., 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. Tilsvarende ble 22:5n-6 ikke detektert i fiskegrupper fôret med økende nivå av 18:2n-6, selv om økt nivå av 20:4n-6 ble observert. Denne lave omdanningen til karbon-22-fettsyrer kan skyldes konkurranse mellom 18:3n-3 og 24:5n-3 om $\Delta 6$ desaturase. Resultatene kan videre tyde på at høy konsentrasjon av karbon-18 flerumettede fettsyrer, kan hemme omdanningen til 22:6n-3. 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.



Omega-3 og omega-6 fettsyrer, spesielt 20:5n-3 og 20:4n-6, konkurrerer også om enzymsystemene for å produsere signalstoffene eicosanoider. Eicosanoider produsert fra omega-6 fettsyrer har oftest en annen biologisk effekt eller er mer/mindre potent enn eicosanoider produsert fra omega-3 fettsyrer. Når laks fôres med soyaolje med høy omega-6 finner man mer av omega-6 eicosanoider i plasma (Martens et al 2011) (se kapittel ”Kort om funksjon av fett”).

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. I tillegg til å dokumentere effektene av å endre fettsyresammensetning i fôr på fiskehelse, er det behov for å dokumentere øvre toleransegrense av omega-6 for konsumentens helse når filetenes fettsyresammensetning endres. Både mengde omega-3 og omega-6 og forholdet mellom dem (omega-3/omega-6 ratio) har betydning for en rekke biologiske prosesser. Optimalt forhold mellom omega-3 og omega-6 må bestemmes samtidig med minimumsbehov og øvre toleransegrense.

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.

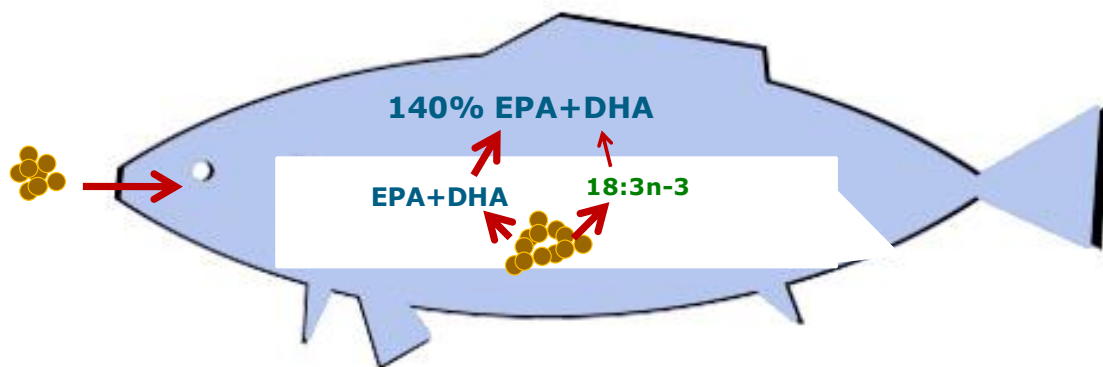
Sesongvariasjoner i fettlagring

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 et al. 1994; Hemre & Sandnes 1999), fôrrasjon (Hillestad et al. 1998; Einen et al. 1999) og økt mengde fett i fôret (Aksnes 1995, Hemre & Sandnes 1999; Torstensen et al. 2001). Flere studier har også rapportert om sesongmessig endringer i omsetning, deponering og fettforbrenning av lipider (Aksnes et al. 1986; Einen et al. 1999; Mørkøre & Rørvik, 2001; Nordgarden et al. 2003). Laksens deponering og retensjon av fett har vist seg å være dynamisk og mer årstidsavhengig enn f.eks retensjonen av protein (Alne et al. 2011). Spesielt har høsten vist seg å være en periode med høy retensjon og akkumulering av fett og fettsyrer (Hemre og Sandnes, 1998; Mørkøre og Rørvik, 2000; Alne et al. 2011). Dette har blitt vist for både 1+ og 0+ smolt, hvor retensjonen av fett om høsten var opptil fem ganger høyere enn om våren (Alne et al., 2011). I vinterperioden har enkelte studier rapportert om en nedgang i nivået av muskelfett hos laks (Aksnes et al. 1986; Einen et al. 1999; Mørkøre & Rørvik, 2001; Nordgarden et al. 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 et al. 1997). Hos laks har det blitt vist at fettforbrenningskapasiteten kan endres med både livsfase og årstid (Nordgarden et al 2003; Stubhaug et al. 2007). I Nordgarden et al. (2003) ble det observert en økning i fettforbrenningskapasiteten om våren, som igjen sammenfalt med økt vekstrate og et redusert nivå av enumettede fettsyrer (MUFA) i muskel. Dette kan indikere at behovet for energi i denne perioden induserte en økning i oksidasjon av lipider, hvor hovedsakelig MUFA ble foretrukket som energisubstrat.

I et nylig forsøk viste man at betydelig mer av fôrfettet ble lagret i fileten om høsten enn om vinteren (Mørkøre et al., 2013, FHF 900653). Den økte fettdeponeringen var sammenfallende med høyere retensjon av EPA og DHA.

Optimalisering av fettsyrer i fôr for EPA og DHA retensjon

Både laks og ørret har potensial til å ha en netto produksjon av DHA, og til en viss grad EPA (Sanden *et al.*, 2011, Turchini *et al.*, 2011). Generelt er retensjonen høyest for DHA, og en studie som nettopp er gjennomført ga netto produksjon av DHA i laks målt fra 1,5 kg til 3 kg fôret når laksen spiste fra ca 1,5 % ned til 0,5 % EPA+DHA gjennom store deler av sjøvannsfasen (150 g til 3 kg) (Rosenlund, pers kom.).



Figur 16; Laks har potensiale til å være en omega-3 fabrikk (Sanden *et al.*, 2011)

Det ser ut til at mengden ALA i fôret begrenser kjedeforlengelse (elongering) og avmetning (desaturering) til EPA og DHA både i regnbueørret og i laks (Ruyter *et al.*, 2000c, Thanuthong *et al.*, 2011, Liland *et al.*, 2013), men det er uvisst hvor mye som er tilstrekkelig. 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 de studiene med laks der vi har observert en netto produksjon av DHA, har linfrøolje vært benyttet i fôret, mens det i studier med tilsvarende mengde EPA og DHA i fôr men *uten* linfrøolje (f.eks Liland *et al.* 2013), ikke har vært noen netto produksjon av EPA eller DHA.

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 *et al.*, 2008, Codabaccus *et al.*, 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 et al. 2012a). Både laks fôret med rapsolje og EPA-rik gjær hadde retensjonsverdier for DHA over 100%, men siden fordøyeligheten av fettsyrene var tatt med i regnestykket (dette gir høyere retensjonstall enn om man bare baserer seg på fettsyrer spist som i studiene nevnt ovenfor), er disse tallene bedre egnet for å se på hvorvidt syntese av DHA har skjedd i fisken enn for å se på total ressursutnyttelse (netto produksjon). 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 et al. 2012a). 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 et al. 2012b).

Slutfôring før slakt (Finishing diet period)

Slutfôring med et fôr som er rikt på fiskeolje er en strategi som har vist seg å fungere bra 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 et al. 2003; Torstensen *et al.*, 2005; Torstensen et al. 2008; Glencross & Turchini 2010; Thanuthong et al., 2012; Waagbø et al. 2013). Det er også utviklet matematiske modeller som estimerer fettsyresammensetning i vev hos fisk etter fôrskifte/ slutfôring (Robin et al., 2003). I perioder med rask vekst er det vist at en stor andel av fettsyrene vil gå til energiproduksjon og dermed gi lavere retensjon i filet, og selv essensielle fettsyrer (18:2 n-6, 18:3 n-3, 20:5 n-3 og 22:6 n-3) vil kunne bli benyttet som energikilde når de gis i overskudd (Stubhaug et al., 2007). Ved å gi laks et fôr bestående av vegetabiliske oljer, reduseres bruken av EPA og DHA som energikilde betraktelig, og retensjonen av disse essensielle fettsyrene øker (Stubhaug et al., 2007). Dette viser at fôring med vegetabiliske oljer og slutfôring før slakt gir potensiale for en mer



Foto: Helge Skodvin

bærekraftig utnyttelse av EPA og DHA. Einen et al. (1998) undersøkte betydningen av

langvarig sulting av større laks (5 kg) før slakt, men fant ingen endring av EPA eller DHA i filet, kun en nedgang i MUFA. I en livsløpsstudie med ørret, fant Kiessling et al. (2001) kun ubetydelig effekt av fôrrasjon for fettsyresammensetningen i filet.

Tiden det tar å oppnå et sluttprodukt med et ønsket innhold av EPA og DHA ved slutfôring vil variere med sesong/årstid (temperatur), type marin olje, vekstrate, samt nivået av fett og fettsyrer i fisken før slutfôringsperioden.

Ressursregnskap for EPA og DHA utnyttelse

Forsøkene over viser til at man kan øke nivået av EPA og DHA i filet før slakt ved å utnytte økt kapasitet til fettlagring om høsten og videre at fisk fôret med lave nivå av fiskeolje i tidligere livsfaser kan øke mengden EPA og DHA i filet ved slutfôring med fôr rikt på marin olje. 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.

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

Leaver et al., (2011) har vist at EPA og DHA nivået i laksemuskel har en arvegrad på $h^2=0.77$. I en pågående studie undersøkes det om laksens egne evne til å produsere EPA og DHA fra α -linolensyre (ALA) kan bedres ved hjelp av genetisk seleksjon (Østbye et al, 2012, Havbrukskonferansen, Stavanger; Berge et al., 2012, ISFNF Molde). Første generasjon avkom etter laksefamilier selektert for høy og lav Δ -6 desaturase genuttrykk (arvegrad $h^2=0.10$), har ulike EPA og DHA nivå i helkropp ved 50 gram. Foreløpige data tyder på et

potensial for å avle fram laksefamilier med økt kapasitet for EPA og DHA produksjon. Fisken må for øvrig følges videre til stor størrelse før dette kan fastslås med sikkerhet.

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, kuldeteranse, 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 15 til 19 måneder for å kunne oppnå en slaktevekt på ca. 3.5 til 4.5 kg. Nibe croaker er en marin fisk med begrenset evne til produksjon av DHA. Kabeya et al (ISFNF 2012) har produsert en transgen nibe croaker med et gen fra masu salmon. Dette genet 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 i transgen zebrafisk ved å overuttrykke gener involvert i syntesen av langkjedede fettsyrer; desaturaser og elongaser (Alimuddin et al., 2005, 2007, 2008). Nivå av EPA og DHA var ca 1.2-1.4 ganger høyere i transgen zebrafisk sammenliknet med normal zebrafisk.

Fisk og pattedyr har ikke enzymer som gjør det mulig å omdanne n-6 til n-3 fettsyrer. Rundormen *c. elegans* har imidlertid et gen, *fat-1*, som innehar denne egenskapen (Kang et al 2004). Kang et al. (2004) har vist at transgene mus med dette genet fra *c. elegans* kan tilføre dobbelbindinger til en umettet fettsyre og omdanne n-6 til n-3 fettsyrer. Resultatet er en nedgang i n-6 fettsyrer og økning i n-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 n-6 til n-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.

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 en netto produsent 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. Et framtidig mål bør være at oppdrett av laks og ørret skal være en netto produsent av EPA og DHA, samtidig som man leverer et sunt produkt til forbruker.

DEL 4; Sentrale hensyn som må tas når minimumsbehov for EPA og DHA skal bestemmes

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.

Det er derfor viktig å definere hvilke kriterier man skal bestemme minimumsbehov av EPA og DHA i forhold til, og det er spesielt behov for å definere tidlige symptomer på omega-3 mangel. Oppsummeringen av dagens kunnskap viser tydelig at fettsyresammensetning påvirker tidlig utvikling av organer og vev, og en hel rekke ulike helseparametre. Optimal utvikling og fiskehelse som gir en produksjonsfisk med god vekst som er motstandsdyktig mot stress, sub-optimale miljøforhold, endringer i vanntemperaturer og ulike typer infeksjoner utgjør til sammen det vi definerer som produksjon av en robust fisk.

Ernæringsbehov må defineres i forhold til den mengden av næringsstoffet fisken faktisk har spist. Det vil si at kontroll med fôrinntak, og dermed kontroll med EPA og DHA inntak, er vesentlig for å kunne bestemme fiskens minimumsbehov. I tillegg må minimumsbehov, spesielt i sjøvannsfasen, bestemmes basert på langtidseffekter av minimumsnivå av EPA og DHA i fôr.





Referanser:

- 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.
- 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., Andreasen, 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.
- AQUAMAX, IP-EU project 016249-2; <http://www.aquamaxip.eu/>
- 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.
- 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.
- Balfry, S. K., J. Oakes, et al. (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.
- 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, et al. (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, et al. (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.
- Bell, J.G. & Koppe, W. (2010) Lipids in Auafeeds. *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. 21-59.
- Bell, I.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. *Journal of Nutrition* 121, 1163-1172.
- 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.
- Brandsen, M. P., C. G. Carter, et al. (2003b). "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." *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology* 135(4): 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.

- Bendiksen, E. A., Berg, O. K., Jobling, M., Arnesen, A. M., & Masoval, K. (2003b) 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., Østbye, T.-K., Kjær, M., & et al. (2012) Atlantic salmon, a net producer of very long chain (VLC) n-3 fatty acids? ISFNF.
- Berntssen, M.H.G., Oterhals, A., Lie, Ø. & Lundebye, A.-K. (2006) Tailoring farmed Atlantic salmon with lower levels of persistent organic pollutants. *Organohal. Compd.*, 68, 624–627.
- Berntssen, M., Hylland, K., Julshamn, K., Lundebye, A.-K. & Waagbø, R. (2004) Maximum limits of organic and inorganic mercury in fish feeds. *Aquaculture Nutrition*, 10, 83-97.
- Bernardi, J. R., Ferreira, C. F., Senter, G., Krolow, R., de Aguiar, B. W., Portella, A. K., Kauer-Sant'Anna, M., Kapczynski, 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).
- 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., Fjelldal 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.
- Chapkin, R. S., Davidson, L. A., Ly, L., Weeks, B. R., Lupton, J. R., & McMurray, D. N. (2007) Immunomodulatory effects of (n-3) fatty acids: Putative link to inflammation and colon cancer. *Journal of Nutrition*, 137(1): 200S-204S.
- Codabaccus, B. M., Bridle, A. R., Nichols, P. D. & Carter, C. G. (2011). An extended feeding history with a stearidonic acid enriched diet from parr to smolt increases n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids biosynthesis in white muscle and liver of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 322: 65-73.
- 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.
- 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.
- Cowey, C.B. & R.J. Roberts. (1978) Nutritional pathology of teleosts, p. 216-226. In R.J. Roberts (ed.). *Fish Pathology*. Bailliere Tindall, London. 318 p.

- 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.
- 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.
- 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.
- Dwyer, C. M., Fletcher, J. M., & Stickland, N. C. (1993) Muscle cellularity and postnatal growth in the pig. *J.Anim Sci*, 71(12): 3339-3343.
- Dwyer, C. M., Stickland, N. C., & Fletcher, J. M. (1994) The Influence of Maternal Nutrition on Muscle-Fiber Number Development in the Porcine Fetus and on Subsequent Postnatal-Growth. *Journal of Animal Science*, 72(4): 911-917.
- EFSA (2011) Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to docosahexaenoic acid (DHA), eicosapentaenoic acid (EPA) and brain, eye and nerve development (ID 501, 513, 540), maintenance of normal brain function (ID 497, 501, 510, 513, 519, 521, 534, 540, 688, 1323, 1360, 4294), maintenance of normal vision (ID 508, 510, 513, 519, 529, 540, 688, 2905, 4294), maintenance of normal cardiac function (ID 510, 688, 1360), “maternal health; pregnancy and nursing” (ID 514), “to fulfil increased omega-3 fatty acids need during pregnancy” (ID 539), “skin and digestive tract epithelial cells maintenance” (ID 525), enhancement of mood (ID 536), “membranes cell structure” (ID 4295), “anti-inflammatory action” (ID 4688) and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 4719) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. doi:10.2903/j.efsa.2011.2078
- 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.
- Emery, J.A., Hermon, K., Hamid, N.K.A., Donald, J.A. & Turchini, G.M. (2013) D-6 desaturase substrate competition: dietary linoleic acid (18:2n-6) has only trivial effects on a-linolenic acid (18:3n-3) bioconversion in the teleost rainbow trout. *PLoS ONE*, 8, e57463.
- 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.
- 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.
- Field, F. J., Watt, K., & Mathur, S. N. (2010) TNF-alpha decreases ABCA1 expression and attenuates HDL cholesterol efflux in the human intestinal cell line Caco-2. *J.Lipid Res.*, 51(6): 1407-1415.
- Flachs, P., Horakova, O., Brauner, P., Rossmeisl, M., Pecina, P., Franssen-van Hal, N., Ruzickova, J., Sponarova, J., Drahotka, 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.

Gjoen, T., E. J. Kleveland, et al. (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.

Gilman, C. I., Leusch, F. D. L., Carl Breckenridge, W. & Maclatchy, D. L. (2003) Effects of a phytosterol mixture on male fish plasma lipoprotein fractions and testis P450scc activity. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 130, 172-184.

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.

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.

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.

Hainault, I., Carlotti, M., Hajdich, 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.

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.

Henderson, R. J., M. F. Tatner, et al. (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.

- Holen, E., S. Winterthun, et al. (2011). "Inhibition of p38 MAPK during cellular activation modulate gene expression of head kidney leukocytes isolated from Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed soy bean oil or fish oil based diets." *Fish & Shellfish Immunology* 30(1): 397-405.
- 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.
- 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.
- Hurst, T. P. (2007) Causes and consequences of winter mortality in fishes. *Journal of Fish Biology*, 71(2): 315-345.
- Iwama, G.K. & Farrell, A.P. (1998) Disorders of the cardiovascular and respiratory system In *Fish Diseases and Disorders* (Leatherland, J.F. & Woo, P.T.K. eds.), Vol. Volume 2 Non-infectious Disorders, pp. 245-278. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.
- Jayasena, C. N. & Bloom, S. R. (2008) Role of gut hormones in obesity. *Endocrinol.Metab Clin.North Am.*, 37(3): 769-87, xi.
- 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*.
- Kamalam, B. S., Panserat, S., Aguirre, P., Geurden, I., Fontagne-Dicharry, S., & Medale, F. (2013) Selection for high muscle fat in rainbow trout induces potentially higher chylomicron synthesis and PUFA biosynthesis in the intestine. *Comparative Biochemistry and Physiology A-Molecular & Integrative Physiology*, 164(2): 417-427.
- 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.
- Kiron, V., A. Gunji, et al. (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.

- Knudsen, D., Uran, P., Arnous, A., Koppe, W. & Frokiaer, H. (2007) Saponin-containing subfractions of soybean molasses induce enteritis in the distal intestine of Atlantic salmon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 6, 2261-2267.
- Krossøy, C., Waagbø, R. & Ørnsrud, R. (2011) Vitamin K in fish nutrition. *Aquaculture Nutrition*, 17, 585-594.
- Kvellestad, 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.
- Koppang, E. O., Fischer, U., Satoh, M. and Jirillo, E. (2007). Inflammation in fish as seen from a morphological point of view with special reference to the vascular compartment. *Current Pharmaceutical Design* 13, 3649-3655.
- Lall, S.P. & Lewis-McCrea, L.M. (2007) Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish - an overview. *Aquaculture*, 267, 3-19.
- Lavoie, J. M. & Pighon, A. (2012) NAFLD, Estrogens, and Physical Exercise: The Animal Model. *J.Nutr.Metab*, 2012: 914938.
- 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.
- Lee, D. J., Roehm, J. N., Yu, T. C., & SINNHUBE.RO (1967) Effect of Omega3 Fatty Acids on Growth Rate of Rainbow Trout *Salmo Gairdnerii*. *Journal of Nutrition*, 92(1): 93-&.
- Ley, R. E. (2010). Obesity and the human microbiome. *Current Opinion in Gastroenterology* 26, 5-11.
- 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. (In press) Diets high in plant protein and phytosterols affect cholesterol metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Br. J. Nutr.*, DOI: 10.1017/S0007114513001347.
- 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.
- Lie, Ø, Lied, E. & Lambertsen, G. (1987) Lipid digestion in cod (*gadus morhua*) *Comp Biochem Physion*, Part B, 88, 697-700.
- Lu, M., A., Chylack Jr., L.T., Rogers, G., Hankinson, S.E., Willett, W.C. & Jacques, P.F. (2005a) Dietary fat intake and early age-related lens opacities. *Am J Clin Nutr*, 81, 773-779.
- Lu, M., Cho, E., A., T., Hankinson, S.E., Willett, W.C. & Jacques, P.F. (2005b) Prospective study of dietary fat and risk of cataract extraction among US women. *American Journal of Epidemiology*, 161, 948-959.
- 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.
- Maage A. and Waagbø R. (1990) Zink and selenium in tissues of young Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing different lipid sources at two levels of vitamin E. *Fisk. Dir. Skr. Ser. Ernæring*, 3(2):21-29.
- 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-Alvarez, R.M., Morales, A.E. & Sanz, A. (2005) Antioxidant defences in fish: biotic and abiotic factors. *Reviews of Fish Biology and Fisheries*, 15, 75-88.
- Martinez-Rubio, L., S. Morais, et al. (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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Måsøval, K., Åsgård, T., Wathne, E., Shearer, K., Staurnes, M., & Sigholt, T. (1994) Survival, growth and osmoregulation of Atlantic salmon smolts transferred to seawater during smoltification and desmoltification. In D. MacKinlay (Ed.), *High Performance Fish. Proc. Internat. Fish Physiol. Symp. July 16-21*: 45-50. Univ.BC. Vancouver.
- 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.
- 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.
- 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., Suontama, J., Langmyhr, E., Mundheim, H., Ringø, E., Melle, W., Malde, M.K. & Hemre, G.-I. (2006), The replacement of fish meal with Antarctic krill, *Euphausia superba* in diets for Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture Nutrition*, 12, 280–290. doi: 10.1111/j.1365-2095.2006.00400.x
- 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. & Ringo, E. (1999) Dominance hierarchy formation in Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.): nutrient digestibility of subordinate and dominant fish. *Aquaculture Research*, 30(9): 667-671.
- 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.
- Olli, J., Breivik, H., Mørkøre, T., Ruyter, B., Johansen, J., Reynolds, P., Thorstad, O., Berge, G. (2010) Removal of persistent organic pollutants from Atlantic salmon (*Salmo solar* L.) diets: Influence on growth, feed utilization efficiency and product quality. *Aquaculture*, 310, 145-155.
- 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.
- Olynik, B. M. & Rastegar, M. (2012) The genetic and epigenetic journey of embryonic stem cells into mature neural cells. *Front Genet.*, 3: 81.

- Oxley A, Jolly C, Eide T, Jordal AE, Svoldal 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.
- Østbye, T.-K., Kjær, M., Ruyter, B., & et al (2012) Laks som netto produsent av omega-3. ISFNF.
- 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.
- 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.
- Powell, S. E. & Aberle, E. D. (1981) Skeletal muscle and adipose tissue cellularity in runt and normal birth weight swine. *J. Anim Sci*, 52(4): 748-756.
- Pratoomyot, J., Bendiksen, E.A., Bell, J.G. & Tocher, D.R. (2008) Comparison of effects of vegetable oils blended with southern hemisphere fish oil and decontaminated northern hemisphere fish oil on growth performance, composition and gene expression in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). *Aquaculture*, 280, 170–178.
- Puangkaew, J., V. Kiron, et al. (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.
- RAFOA (2005) Researching Alternatives to Fish Oils in Aquaculture. http://www.rafoa.stir.ac.uk/project_results.html.
- 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.
- Raynard, R. S., A. H. Mcvicar, et al. (1991). "Nutritional Aspects of Pancreas Disease of Atlantic Salmon - the Effects of Dietary Vitamin-E and Polyunsaturated Fatty-Acids." *Comparative Biochemistry and Physiology a-Physiology* 98(1): 125-131.
- Regost, C., Jakobsen, J. V., & Rora, A. M. B. (2004) Flesh quality of raw and smoked fillets of Atlantic salmon as influenced by dietary oil sources and frozen storage. *Food Research International*, 37(3): 259-271.
- Remø, S.C., Olsvik, P.A., Torstensen, B.E., Amlund, H., Breck, O. & Waagbø, R. (2011a) 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., Fivelstad, S. & Waagbø, R. (2011b) Metabolsk meistring hos parr utsett for aukande CO₂ konsentrasjonar ved høg temperatur. Muntlig innlegg ved Frisk Fisk – konferansen, 19-20. Januar 2011, Tromsø, p.65.
- Remø, S.C., Hevrøy, E.M., Breck, O., Olsvik, P.A., Kensicki, E. & Waagbø, R. (2012) Why is Atlantic salmon more predisposed to cataracts than rainbow trout? Metabolomic profiling as a tool to understand cataractogenesis. Oral communication. 15th International symposium on fish nutrition and feeding, 4-7 June 2012, Molde, Norway. O62.
- Remø, S.C. Hevrøy, E.M. Olsvik P.A., Fontanillas R., Breck O. and Waagbø R. Reevaluation of practical histidine requirement in Atlantic salmon smolt relative to the novel physiological roles of imidazoles in tissue osmoregulation, pH buffering and antioxidation. *J. Nutr.* Submitted 2013.
- Rhodes, J.D., Breck, O., Waagbø, R., Bjerkås, E. & Sanderson, J. (2010) N-Acetylhistidine, a novel osmolyte in the lens of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 299, R1075-R1081.
- 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.
- Robin, J. H., Regost, C., Arzel, J. & Kaushik, S. J. (2003). Fatty acid profile of fish following a change in dietary fatty acid source: model of fatty acid composition with a dilution hypothesis. *Aquaculture*, 225 (1-4): 283-293.
- Rorvik, K. A., H. Alne, et al. (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.
- 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 Atlanticsalmon visceral adipose tissue. *ISFNF*.
- Rocha, S. (2012). Replacing fish oil by vegetable oil in a low fish protein diet: effects on visceral adipose tissue and inflammation in Atlantic salmon. Master thesis, UiB, Bergen, Norway. pp 62.
- 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.
- 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, et al. (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).
- Salte, R., Asgard, T., & Liestol, K. (1988) Vitamin-e and Selenium Prophylaxis Against Hitra Disease in Farmed Atlantic Salmon - A Survival Study. *Aquaculture*, 75(1-2): 45-55.
- 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.
- Sargent, J.R., Tocher, D.R. & Bell, J.G. (2002) The lipids, third edition In Book (Halver, J.E. & Hardy, R.W. eds.), pp. 182-259. Academic Press, London.
- 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.
- Seierstad, S. L., O. Haugland, et al. (2009). "Pro-inflammatory cytokine expression and respiratory burst activity following replacement of fish oil with rapeseed oil in the feed for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)." *Aquaculture* 289(3-4): 212-218.
- Seierstad, S. L., Poppe, T. T., Koppang, E. O., Svindland, A., Rosenlund, G., Frøyland, L. and Larsen, S. (2005). Influence of dietary lipid composition on cardiac pathology in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Dis.* 28, 677-690.
- 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.
- 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.
- Skugor, S., Skugor, A., Todorovic, M., Torgersen, J., Ruyter, B., & Krasnov, A. (2010) Exposure to lipopolysaccharide induces immune genes in cultured preadipocytes of Atlantic salmon. *Fish & Shellfish Immunology*, 29(5): 817-824.
- 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.
- Szczepaniak, L. S., Nurenberg, P., Leonard, D., Browning, J. D., Reingold, J. S., Grundy, S., Hobbs, H. H., & Dobbins, R. L. (2005) Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *Am.J.Physiol Endocrinol.Metab*, 288(2): E462-E468.
- 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.
- Takeuchi, T., Watanabe, T., & Nose, T. (1979) Studies on Nutritive-Value of Dietary Lipids in Fish .18. Requirement for Essential Fatty-Acids of Chum Salmon (*Oncorhynchus-Keta*) in Freshwater Environment. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 45(10): 1319-1323.
- Takle, H. (2012) FHF Rapport 900457.
- 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, M. S. & Rosjo, C. (1989) Different Fats in Feed for Salmon - Influence on Sensory Parameters, Growth-Rate and Fatty-Acids in Muscle and Heart. *Aquaculture*, 79(1-4): 129-135.
- 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.

- 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.
- Todorcevic, M., Kjaer, M. A., Djakovic, 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.
- Todorcevic, 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.
- 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.
- 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., Froyland, 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.
- Tort, L., Balasch, J.C. & MacKenzie, S. (2004) Fish health challenge after stress. Indicators of immunocompetence. *Contributions to Science*, 2, 443-454.
- Tremblay, L. & Van Der Kraak, G. (1998) Use of a series of homologous in vitro and in vivo assays to evaluate the endocrine modulating actions of [beta]-sitosterol in rainbow trout. *Aquat. Toxicol.*, 43, 149-162.
- 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.
- Trzeciakiewicz, A., Habauzit, V., & Horcajada, M. N. (2009) When nutrition interacts with osteoblast function: molecular mechanisms of polyphenols. *Nutr.Res.Rev.*, 22(1): 68-81.
- Turnbaugh, P. J. & Gordon, J. I. (2009) The core gut microbiome, energy balance and obesity. *Journal of Physiology-London*, 587(17): 4153-4158.
- 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., 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. & Torstensen, 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., et al. (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., Sandnes K., Sandvin A. and Lie Ø. (1991) Feeding three levels of n-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFA) at two levels of vitamin E to Atlantic salmon (*Salmo salar*). Growth and chemical composition. *Fisk. Dir. Skr. Ser. Ernæring*, 4(1):51-63.
- 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. (2006) Feeding and disease resistance in fish In *Biology of growing animal* (Mosenthin, J., et al. 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. (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., et al. 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. and Maage A. (1992) The influence of dietary lipid sources and vitamin E on iron status in postsmolt Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fisk. Dir. Skr. Ser. Ernæring*, 5(2): 77-82.
- 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.
- Waagbø R., Sandnes K., Torrissen O.J., Sandvin A. and Lie Ø. (1993c) Chemical and sensory evaluation of fillets from Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed three levels of n-3 polyunsaturated fatty acids at two levels of vitamin E. *Food Chemistry* 46:361-366.
- 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. & Vassallo-Agius, R. (2003) Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquaculture*, 227(1-4): 35-61.
- Weisberg, S. P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R. L. and Ferrante, A. W. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *Journal of Clinical Investigation* 112, 1796-1808.
- 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.
- Xu, H. Y., Barnes, G. T., Yang, Q., Tan, Q., Yang, D. S., Chou, C. J., Sole, J., Nichols, A., Ross, J. S., Tartaglia, L. A. et al. (2003). Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation* 112, 1821-1830.
- 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.
- Yu, T. C. and Sinnhuber, R. O. (1979). EFFECT OF DIETARY OMEGA-3 AND OMEGA-6 FATTY-ACIDS ON GROWTH AND FEED CONVERSION EFFICIENCY OF COHO SALMON (*ONCORHYNCHUS-KISUTCH*). *Aquaculture* 16, 31-38.

Zheng, X., Leaver, M. J., & Tocher, D. R. (2009) Long-chain polyunsaturated fatty acid synthesis in fish: Comparative analysis of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) Delta6 fatty acyl desaturase gene promoters. *Comp Biochem. Physiol B Biochem. Mol. Biol.*, 154(3): 255-263.

Zheng, X., Torstensen, B. E., Tocher, D. R., Dick, J. R., Henderson, R. J., & Bell, J. G. (2005) Environmental and dietary influences on highly unsaturated fatty acid biosynthesis and expression of fatty acyl desaturase and elongase genes in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Biochim. Biophys. Acta*, 1734(1): 13-24.

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