

# MASTEROPPGAVE

Caroline Navjord

AK306F MASTEROPPGAVE I AKVAKULTUR

---

## Svømmekapasitet hos Rognkjeks (*Cyclopterus lumpus L.*)

---

Fakultetet for Biovitenskap og Akvakultur

Vår 2017

# Forord

Denne masteroppgaven er en del av graden "Master i Akvakultur" ved Nord Universitet, og er resultatet av ett års arbeid (60 studiepoeng). Oppgaven er en del av det norske forskningsprosjektet "CycLus", som i samarbeid med Nord Universitet jobber med å kartlegge grunnleggende fysiologiske parametere hos rognkjeksken.

Først og fremst ønsker jeg å takke veilederen min, Torstein Kristensen, for en spennende oppgave, uvurderlig hjelp til gjennomførelse av denne og utmerket oppfølging og tilgjengelighet underveis. Og ikke minst takk for all hjelp med statistikken. Du er gull!

CycLus skal også ha stor takk for at jeg fikk ta del i dette spennende og viktige prosjektet, og ikke minst for finansieringen av eksperimentet.

Tusen takk til Ioannis Vatsos for store mengder suveren hjelp og tålmodig opplæring i histologi.

En stor takk rettes til Einar Skarstad Egeland for godt samarbeid og storslagen hjelp på laben under serum pigmentering-biten.

Takk til mine med-veiledere Martin Haugmo Iversen, og Svein Martin Jørgensen.

Til alle ansatte ved Mørkvedbukta Forskningsstasjon, takk for god hjelp under eksperimentet og histologien, og for at tok dere tid til å besvare uendelige mengder spørsmål.

En ekstra spesiell takk til favorittmennesket mitt, Nicolai Frantzen, som gav meg husrom, hjerterom og store mengder motivasjon i innspurten. Uten deg hadde dette vært helt umulig!

Og sist, men ikke minst, vil jeg takke familie, spesielt lillebror, og alle mine fantastiske venner for god støtte og tålmodighet med meg underveis i studiet og oppgaven.

Bodø, mai 2017

Caroline Navjord

# Svømmekapasitet hos Rognkjeks (*Cyclopterus lumpus L.*)

## INNHOLDSFORTEGNELSE

<b>SAMMENDRAG</b>	<b>3</b>
<b>1. INNLEDNING</b>	<b>4</b>
1.1 OPPDRETTSNÆRINGEN I NORGE I DAG.....	4
1.2 RENSEFISK I LAKSEINDUSTRIEN.....	7
1.3 ROGNKJEKSENS FYSIOLOGI.....	9
1.4 TEMPERATURTOLERANSE HOS FISK.....	14
1.5 SVØMMING AV FISK I AKVAKULTUR.....	16
1.6 STRESS.....	17
1.7 GJELLER.....	18
1.8 METODIKK.....	19
1.9 MÅLET FOR OPPGAVEN.....	20
<b>2. MATERIALE OG METODE</b>	<b>21</b>
2.1 GJENNOMFØRELSE AV FORSØKET.....	21
2.2 FORSØKSDYR.....	21
2.3 AKKLIMATISERING OG HÅNDTERING.....	21
2.4 PROSJEKTER OG FORSØKSPROTOKOLL.....	22
2.4.1 SVØMMEKAPASITET.....	23
2.4.2 SERUM PIGMENTERING.....	25
2.4.3 HISTOLOGISKE ANALYSER AV GJELLER.....	26
2.5 STATISTISKE ANALYSER.....	27
<b>3. RESULTATER</b>	<b>28</b>
3.1 ADFERD OG DØDELIGHET.....	28
3.2 SVØMMEKAPASITET.....	28
3.3 HISTOLOGI.....	34
<b>4. DISKUSJON</b>	<b>39</b>
<b>FINANSIERING</b> .....	<b>44</b>
<b>REFERANSER</b> .....	<b>45</b>

## SAMMENDRAG

Rognkjeks (*Cyclopterus lumpus L.*) har vist seg å være en effektiv art til bruk som renseskisk i lakseindustrien. Den blir satt ut i merder sammen med Atlantisk laks (*Salmo salar*), hvor den spiser lakselus (*Lepeophtheius salmonis*) av laksen og slik hjelper til å bekjempe denne parasitten som infiserer oppdrettsanlegg langs hele kysten. behandlingskostnader.

Lusebekjempelse fører hvert år til enorme tap i behandlingskostnader og tapt tilvekst, og store dyrevelferdsmessige utfordringer. Rognkjeks er en relativt ny art i denne næringen, og det finnes lite nyere forskning på den, noe som gjør at det fortsatt knytter seg en del utfordringer til oppdrett og bruk av den i akvakulturindustrien. Målet for denne studien var å kartlegge svømmekapasiteten til rognkjeks både når den fikk svømme med sugekoppen i behold, og når den ble fratatt muligheten til å feste seg. Dette ble gjort ved to ulike temperaturer, hvor 2 grupper fisk (N=80) ble akklimatisert til henholdsvis 7 °C (N=40) og 13 °C (N=40), for å samtidig se om det var noen forskjell på svømmekapasiteten på disse to temperaturene. Arten har i andre studier vist seg å være relativt tolerant for temperaturendringer, og man ville se nærmere på artens prestasjonsevner under disse to temperaturene når den ble tvunget til å svømme. Man ville også se om det var noen definert forskjell i svømmekapasiteten basert på størrelse på fisken. Den kald -og varmakklimatiserte fisken viste ingen signifikant forskjell på svømmevillighet. Derimot så man at en signifikant større andel av fisk med immobilisert sugekopp var villige til å svømme i forsøket ( $p=0,0083$ ), men samtidig at ikke alle fisk med immobilisert sugekopp var villige til å svømme. Ved testing av kombinasjonen av farge på fisken og temperatur, fikk man signifikant utslag ( $p=0,0192$ ), noe som kan tyde på at det finnes variasjoner i egenskaper man hittil ikke visste noe om. Man fant dessuten høyest blodglukoseverdier på fisken som svømte på høyest kritiske svømmehastighet ( $U_{crit}$ ) ( $p=0,001$ ) noe som tyder på at svømming på høye temperaturer er krevende for arten. Konklusjonen er at rognkjeks er en relativt dårlig svømmer i forhold til Atlantisk laks. Arten vokser mer i bredde og høyde enn i lengde, noe man kan anta gjør det fysisk tyngre for den å svømme i sterkere strøm jo større den vokser seg og dette er rapportert fra oppdrett hvor rognkjeks slutter å svømme etter laksen for å beite lus når den blir for stor, og heller går over til å spise laksepellets i stedet. Det ble funnet store mengder skader på gjellene hos fisken i forsøket, noe som tyder på at manglende forskning på arten fører til at de blir produsert under sub-optimale forhold, og at dyrevelferden i oppdrett av arten per dags dato ikke er så god som den burde være.

## **1. INNLEDNING**

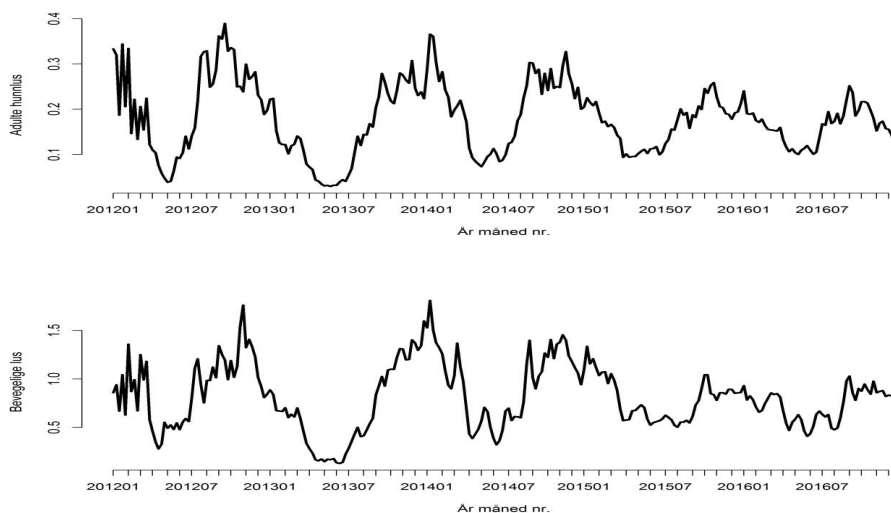
### **1.1 OPPDRETTSNÆRINGEN I NORGE I DAG**

2015 var et rekordår for akvakulturnæringen i Norge og det ble solgt 1,39 tonn fisk og skalldyr fra norske oppdrettsanlegg, til en verdi av 46,7 milliarder kroner. Det ble produsert 1 314 584 tonn atlantisk laks (*Salmo salar*), 71 991 tonn regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*), 1 277 tonn kveite (*Hipoglossus hipoglossus*) og 2 587 tonn skalldyr. Laks utgjorde hele 95% av den produserte mengden oppdrettsfisk, og de i overkant 1,31 millionene tonn ble solgt til en førstehåndsverdi (ved salg av slaktet matfisk er førstehåndsverdien den prisen oppdretter får ved salg av foredlet fersk eller frosset fisk) av 44,3 milliarder kroner. Dette er en økning på 5% produsert mengde og 6% førstehåndsverdi i forhold til i 2014. Gjennomsnittsprisen for laks i 2015 var på 33,70 kroner per kilo. Foreløpige tall for 2016 viser at Norge eksporterte laks for 61,3 milliarder kroner (<https://www.ssb.no/jord-skog-jakt-og-fiskeri/statistikker/fiskeoppdrett/aar-forelopige>). Grunnet nedgangstider for olje og gassnæringen i Norge ble det i 2015 lansert store politiske vekstambisjoner på vegne av norsk oppdrettsnæring. Bio-økonomien pekes på som en mulig god erstatning for tapt vekstskaping og sysselsetting, og for oppdrettsnæringen holdes fem til seks ganger større verdiskaping fram som et politisk mål. Ved å øke veksten i så høy grad må man forvente at det raskt vil oppstå nye helsetrusler i næringen, og produksjonsveksten vil øke behovet for kontroll med fiskehelsen, da smittespredning, sykdom og velferdsproblemer kan bli uønskede konsekvenser i kjølvannet av denne veksten. Noe som kan medføre store økonomiske og tap for industrien og omdømmet dens hvis denne trusselen ikke tas på alvor. Risikovurderinger og forebyggende arbeid vil bli stadig viktigere for å få oversikt over sykdommer, svinn og andre velferdsindikatorer (Fiskehelse rapporten 2015) i denne bransjen som i 2015 sysselsatte i overkant av 6 730 mennesker i her til lands (<https://www.ssb.no/jord-skog-jakt-og-fiskeri/statistikker/fiskeoppdrett/aar-forelopige/2016-06-02>).

Lakseoppdrett oppstod i Norge på 1970-tallet og ble kommersielt verdifull rundt 1980 (Asche, F. & Bjørndal, T. 2011). Oppdrett av laks er en svært suksessfull næring, og en viktig grunn til dette er den hurtige teknologiske utviklingen og høye produksjonsveksten som har ført til økt konkurransedyktighet. En nøkkelfaktor for suksessen i oppdrett i Norge har lenge vært bedre og billigere smolt. Smoltproduksjon har opplevd rask teknologisk framgang siden 1980-tallet, og

størstedelen av kostnadsbesparingen kommer fra økt suksess i denne delen av lakseoppdretten. Dette har gjort norsk laks mer konkurransedyktig i forhold til andre matprodusenter (Asche et al. 2013), og i dag produserer Norge over halvparten av all atlantisk oppdrettslaks i verden. Men de senere år har man sett en endring i produksjonskostnadene hvor både økning i smoltpriser og førkostnader spiller en viktig rolle. Men kanskje aller viktigst, er utviklingen i såkalte ”andre kostnader”, hvor spesielt utgifter for å forebygge, forhindre og behandle lusepåslag og sykdom er en av de største problemstillingene. Disse faktorene kan føre til redusert tilvekst og høyere før-faktor. Å igangsette forebyggende tiltak mot disse faktorene, kan medføre høyere kapitalkostnader, kostnader til forvaltningsprosesser, medføre mer arbeid og innhenting av spesialiserte leverandører som kjøpes inn som tjenester, og slik kreve forhøyede lønnskostnader (<https://www.ssb.no/jord-skog-jakt-og-fiskeri/artikler-og-publikasjoner/fra-attatnaering-til-milliardindustri>).

Denne enorme industrien har samtidig potensiale til å påvirke omgivelsene langs kysten og i elver og slik ha en negativ effekt på blant annet de villevende laksestammene som lever der. Havforskningsinstituttet satte i 2011 i gang et stort risikoanalyseprosjekt for årlig kartlegging av oppdrettsnæringens påvirkning på de ville laksestammene i landet. Dette er et av de første risikoanalyseprosjektene i akvakultur i verden. Prosjektets oppgaver omfatter kartlegging av genetisk introgresjon av oppdrettsfisk i ville laksestammer, effekten av oppdrettsfiskens spredning av lakselus (*Lepeophtheius salmonis*) til vill fisk, samt spredning av virus-sykdommer på villaks. Hovedfunnene var som følger; 21 av de 34 ville laksestammene man så på indikerte moderat til høy risiko for genetisk introgresjon fra rømt oppdrettslaks, og at utbrudd av virussykdommer (PD, IPN, HSMB, CS) i stor grad kan ses i mange områder. Man så dessuten at 109 stasjoner langs norskekysten var infisert med lakselus, der 27 av disse indikerte moderat til høy sannsynlighet for dødelighet på laksesmolt, mens 67 stasjoner indikerte moderat til høy dødelighet på vill sjøørret (Anon. 2009). Dette viser at selv om lakseindustrien er en svært viktig industri i Norge, begrenser den seg selv grunnet påvirkningen den har på ville laksestammer. Vekstmulighetene på biomasse og størrelse på oppdrettsanlegg er strengt regulert av myndighetenes reguleringer og krav til bekjempelse av lakselus (Asche et al. 2013; Winther et al. 2015), og mengden lakselus på norske villaks-stammer blir brukt som målestokk for å evaluere effekten akvakulturen har på miljøet i hav og elver. Dette ettersom antall verter for lusa øker proporsjonalt i takt med økning i biomasse laks i akvakulturen (Karlsen et al. 2016). Figur 1 viser innrapporterte lakselus-tall for perioden januar 2012 til desember 2016.



**Figur 1.** Gjennomsnitt av ukesvis innrapporterte lakselus-tall for alle marine oppdrettsanlegg, med laks eller regnbueørret, i hele landet over perioden januar 2012 til desember 2016. Øvre panel gjelder voksne hunn-lus og nedre panel viser andre bevegelige stadier av lus (pre-adulte lus og voksne hann-lus) (Fiskehelserapporten 2016, side 85).

Lakselus er blant de vanligste marine parasittene i Nord-Atlanteren, og den er kategorisert som en liste 3-sykdom. Forekomst eller mistanke om lakselus skal umiddelbart rapporteres til Mattilsynet (<http://www.vetinst.no/sykdom-og-agens/lakselus>). Lakselusa er et krepsdyr som infiserer oppdrettslaks så vel som villaks, hvor den suger seg fast og spiser av hud, slim og blod hos fisken. Dette gir skader i form av åpne sår og anemi, som kan føre til sekundære infeksjoner og stressresponser som videre i verste fall kan lede til dødelighet. Den gjør stor skade i lakseoppdretten, og påfører næringen enorme økonomiske tap i behandlingskostnader hvert år (Bjørn et al. 2001; Heuch et al. 2005; Tully & Nolan 2002)(Boxaspen 2006; Costello 2006; Costello 2009b). Bare i 2015 tapte norsk oppdrettsnæring 430 millioner euro (Iversen et al. 2015). Behandling av lakselus har tidligere vært begrenset til ikke medikamentelle behandlinger som skjermer mot lus; luseskjørt, nedsenket merd, strømskjørt eller laser, og kjemoterapeutiske midler som gis i fôret (emamectin benzoat eller flubenzuroner) eller i form av bad (pyrethroider, azametifos eller hydrogenperoksid). Disse tilføres direkte i vannet, ved at merden dekkes med en presenning, eller fisken pumpes inn i en brønnbåt der den behandles i et lukket volum. Men man har sett en økende trend til at lakselusa blir resistent mot denne typen kjemoterapeutisk behandling (McEwan et al 2016)( <http://www.vetinst.no/sykdom-og-agens/lakselus>). Målt i mengde virkestoff, er hydrogenperoksid ( $H_2O_2$ ), det mest brukte

middelet for denne typen behandling i Norge i dag. I 2016 ble det brukt et samlet volum på 26,6 tonn, mot 43,2 tonn i 2015, noe som viser at bruken er klart på vei ned. Selv om hydrogenperoksid fortsatt er effektivt og utbredt i bruk, er det et kostbart legemiddel som krever store volumer for hver behandling (<http://sjomatnorge.no/mindre-legemidler-mot-lakselus/>). Men resistens mot hydrogenperoksid og andre typer behandlinger har ført til at det de senere år har blitt mer og mer utbredt å gjøre bruk av rensefisk for å bekjempe lakselus i laksemerdene, og rensefisk er per i dag den mest miljøvennlige og bærekraftige metoden for biologisk avlusning (<https://www.regjeringen.no>).

## **1.2 RENSEFISK I LAKSEINDUSTRIEN**

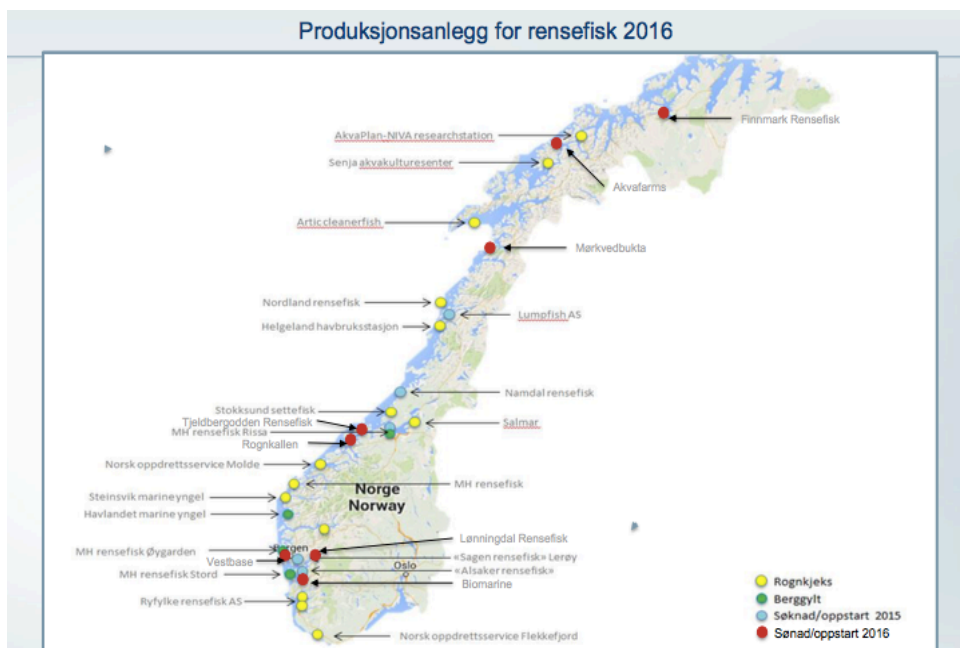
Bruken av rensefisk som biologisk kontroll av lakselus har de senere år vist seg å være et effektivt middel i kampen mot denne stadig mer utbredte parasitten (Lees et al. 2009; Torrissen et al. 2013). Ettersom produksjonen av laks øker, ser man en trend i at oppdrettere setter fisken i større merder enn tidligere og størrelsen på standardmerdene har økt fra 80 til 160 meter i omkrets, og de største typene er helt opp i 240 meter i omkrets (<http://www.akvagrupper.com>). Dette fører til vanskeligheter med å følge opp laksen, og både lusetelling, opptak av død fisk og lusebehandling byr på større utfordringer enn før. Sub-optimale lusebehandlinger er ineffektive og bidrar raskt til at lusa blir resistent mot kjemikaliene som brukes, noe som er svært uønsket. Det gjøres store tiltak i kampen mot lakselusa, og Mattilsynet krever melde – og utredningsplikt ved mistanke om resistens, krav om oppfølging av behandlingene, krav til behandlingsmetodikk, og de kan dessuten opprette egne soner for bekjemping av lakselus, på lik linje med andre smittsomme sykdommer ([https://www.mattilsynet.no/fisk\\_og\\_akvakultur](https://www.mattilsynet.no/fisk_og_akvakultur)).

Kommersiell produksjon av rensefisk har eksplodert de senere år. Fra tusener av fisk i 2010, til godt over 30 millioner juvenile globalt solgt til lakseoppdrett i 2016. I 2015 brukte Norge alene nesten 26 millioner rensefisk. Figur 2 viser oppdrettslokaliteter på rensefisk i Norge er 2016. For å møte globale behov for rensefisk i denne industrien, vil den årlige produksjonen måtte økes til 50 millioner fisk i året i 2020, og slik den produseres nå, der den hos noen arter er avhengig av villfanget stamfisk, er dette sannsynligvis ikke bærekraftig over tid. Det trengs derfor mer forskning for å finne en måte å kontrollere vekst og kjønnsmodning for slik å kunne produsere yngel året rundt. Det trengs også mer forskning på områder som utvelgelse av



elitelinjer med ønskede egenskaper som er best mulig tilpasset et liv i merdene sammen med laksen, og dessuten bør det utvikles spesialtilpasset fôr, bedre strategier for dyrevelferd, og nye vaksiner for å kunne produsere fisk fri for sykdommer (Powell et al. 2016). I 2016 reduserte havbruksnæringen bruk av legemidler mot lakselus betraktelig. Den positive utviklingen var en følge av næringens strategi, og relateres hovedsakelig til bruk av rensefisk og god virkning fra medisinfrie tiltak. Det vises til reduksjon av bruk av bademidler som behandling mot lakselus, og foreløpige tall viser reduksjon som varierte fra 33 til 63 prosent. Bruk av hydrogenperoksid hadde en nedgang på 38 prosent. Forbruk av legemidler i fôr gikk også noe ned, men ikke i like stor grad som legemidlene. Forekomst av lakselus i merdene viste en liten nedgang i 2016, dette på tross av redusert effekt av legemidler og begrenset kapasitet på medisinfrie tiltak. Man tror at viktigste årsak til dette er at flere har tatt i bruk medisinfrie tiltak samtidig som man er blitt flinkere til å bruke rensefisk på riktig måte (Lusedata 2016).

Imsland et al. (2014a) gjorde en studie på bruk av rognkjeks som rensefisk, og fant at den er svært effektiv som lakselus-eter, og det var signifikant lavere gjennomsnitt på både pre-adulte lus samt kjønnsmodne hann –og hunn-lus per laks i merder med rognkjeks mot merder uten rognkjeks. Med andre ord viste denne studien tydelig at rognkjeks er en svært effektiv art til bruk i biologisk avlusning av Atlantisk laks. Det finnes imidlertid relativt lite forskning på denne artens bruk til dette formålet, og kartlegging av dens biologi og fysiologi er absolutt nødvendig for å kunne optimalisere produksjonen og bruken av den i oppdrettsnæringen. Forskning tyder på at rognkjeks fint tilpasser seg å leve sammen med laks åpne merder, og vokser godt så lenge basale behov som nok mat, substrat å suge seg fast på, og gjemmesteder blir dekket (Imsland et al., 2014a,2014b,2014c), men dessverre rapporteres det dødelighet på arten som man relaterer til ernæring og miljø, uten at man har helt klarhet i nøyaktig hva det er som utløser denne dødeligheten. Man tror at god fiskehelse -og velferd i form av gode skjulingsmuligheter, riktige fôringsregimer og minimal/skånsom håndtering er første skritt for å redusere dødeligheten i oppdrett av arten. Vaksiner mot noen bakterier (hovedsakelig atypisk *A. salmonicida* og *Vibrio anguillarum*) er også igangsatt, men man er fortsatt usikker på om nedgangen av funn på Atypisk Furunkulose fra 2015 til 2016 kan settes i sammenheng med dette (Fiskehelse rapporten 2016). Nettsiden lusedata har sammen med mattilsynet publisert en bransjeveileder for bruk og hold av rognkjeks, for å bidra til optimal og effektiv bruk av arten, samtidig som den skal hjelpe til å ivareta rognkjeks helse og velferd (Lusedata 2016). Figur 2 viser distribusjon av produksjonsanlegg for rensefisk i Norge per 2016.

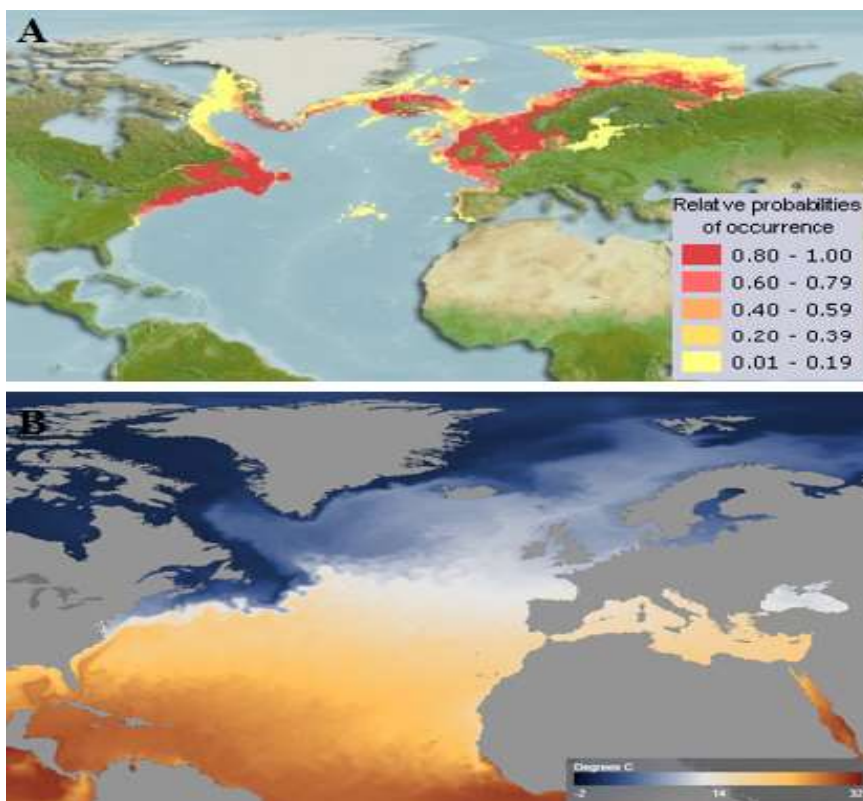


Figur 2. Produksjonsanlegg for rensefisk per 2016 (<http://marinhelse.no>)

### 1.3 ROGNKJEKSENS FYSIOLOGI

Rognkjeks er en liten scorpaeniform fisk i familien *Cyclopteridae* og man tror den slekter på ulkefisker. Det er en såkalt semi-pelagisk art (Albert et al. 2015), som man utenom gytesesongen finner i de øverste 50-60 meterne i Nord Atlanteren, og ofte over abyssale dybder i Norskehavet, i et stort område på begge sider av Nord Atlanteren: fra Nunavut, Hudson Bay og Labrador til New Jersey og Bermuda i Vest Atlanteren, til Barentshavet, Island, Grønland og Iberian Peninsula på østsiden, og den er også i nyere tid funnet i Middelhavsområdene (Powell et al. 2016). Figur 3 viser kart over artens distribusjon samt termalregime i Nord Atlanteren. I Norge gyter arten langs hele kysten. Dette indikerer en bred temperaturtoleranse hos arten, noe som gir den store fordeler sett i forhold til andre, mer temperatursensitive rensefisker som Berggyllt, (*Labrus berggylta*), Bergnebb (*Ctenolabrus rupestris* L.) og Grønngyllt (*Symphodus melops* L.) (Groner, et al., 2012; Sayer and Reader, 1996). Studie gjort på temperaturtoleranse hos arten av Iversen (2016), viste følgende:  $\sim 16-17\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $T_{\text{opt}}$ ),  $\sim 18.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $T_{\text{max}}$ ), og  $\sim 22\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $T_{\text{arr}}$ ) ( $T_{\text{opt}}$  = optimal temperatur,  $T_{\text{max}}$  = maksimum temperatur,  $T_{\text{arr}}$  = dødelig temperatur), og hun mener at det er sannsynlig at rognkjeks i nordlige områder har en lavere temperaturtoleranse enn sydlige populasjoner av arten, men forskningen hennes tyder på at arten er svært fleksibel når det kommer til å akklimatisere seg til høye temperaturer på kort tid.

Dette kan være svært nyttig i forhold til at arten selges til bruk i lakseoppdrett i store deler av landet, og settes ut i laksemerder med andre temperaturer enn i fasilitetene der den er oppdrettet. Hun mener videre at arten sannsynligvis vokser og beiter på lus på temperaturer ved og like under  $T_{opt}$ , ettersom hun fant aktiviteten å være maks ved  $T_{opt}$  i forsøket sitt. Derfor vil nok eksponering for temperaturer over  $T_{opt}$  resultere i en inaktiv rognkjeks. Men likevel mener hun at kortsiktig overlevelse i denne temperaturen vil være mulig gjennom fenotypisk plastisitet. Videre vet man ikke nedre temperaturgrense for arten, og man trenger mer forskning på akklimatisering på temperaturer under  $8\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å kunne konkludere med et fullstendig temperatortoleransevidu og effektene det har på artens fysiologi.



**Figur 3.** (A) Kart over distribusjon av rognkjeks. Røde områder på bildet har høyest sannsynlighet for funn av arten (Fishbase 2016). (B) Termalregime i Nord Atlanteren, viser den årlige gjennomsnittstemperaturen i havområdet (NOAA 2016).

Nytrø et al. (2014) gjorde også temperaturstudie på arten, og fant at optimal temperatur for vekst hos rognkjeks på juvenile stadier seg å synke med kroppsvekt, og det er observert en signifikant ontogenetisk variasjon her. For grupper på 11–20, 20–40, 100–110 og 120–200 gram viser det seg å være en parabolisk regresjon som indikerer optimale temperaturer for vekst på følgende 15.7, 16.1, 13.1 og 8.9  $^{\circ}\text{C}$ . Det lyktes ikke å kartlegge gruppene under 11 g i

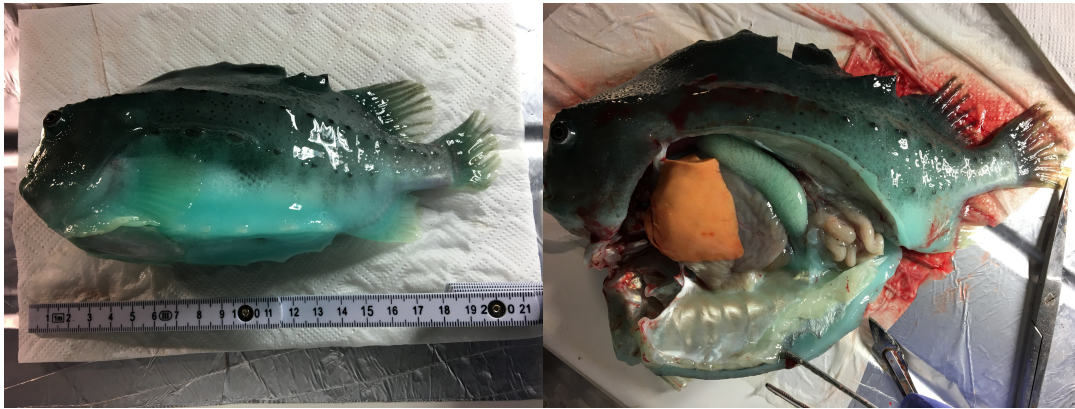
temperaturintervallet som ble undersøkt (4–16 °C) i denne studien, men det forekom indikasjoner på at optimal temperatur her ligger på noe over 16 °C. Fisk som ble holdt på temperaturer rundt 4 °C viste lav vekst, og gav individer med en gjennomsnittlig vekt på 81% lavere enn fisk holdt i temperaturer på 13 og 16 °C. Både hos ville og oppdrettede larver og fisk på juvenile stadier ser man høye vekstrater fra midten av juli til august, før det avtar i midten av august-september. Dette henger nok sammen med at larver og juvenile rognkjeks tilbringer tidlige livsfaser i indre tempererte kystområder, hvor de vokser raskt, før de migrerer ut til dypere og kaldere vannområder der vekstraten samtidig går noe ned. Man tror at større individer forlater de indre tempererte kystområdene tidligere enn mindre individer (Nytrø et al. 2014).

Rognkjeks er såkalt ”globiform” av utseende, den er altså nærmest kuleformet. Den er en cottoid teleost, og har mange av karakteristikkene til en bunnlevende fisk på tross av at den lever i de øvre vannmassene. Den har et brusklignende skjelett som gir den oppdrift, og en stor mengde gelelignende subkutant vev, hvorav mye av dette er samlet i en kam på fiskens rygg som dekker dorsalfinnen. Den har generelt lav tetthet, og hos drektige hunner ser man en tetthet på gjennomsnittlig  $1.0305 \text{ g ml}^{-1}$ , dette er tilnærmet lik sjøvann, som ligger på  $1.0269 \text{ g ml}^{-1}$ . Hunnene har lav osmolaritet i ovarievæsken, der denne inneholder lave nivåer av tunge divalente ioner. De dorsale musklene er løs-fibrete og vannaktige, og har også lav osmolaritet. Hannene har også lav tetthet, men besitter mindre av den subkutane ”geleen” og har kraftigere dorsale muskler. Hannenes dorsale muskler inneholder derimot høye fettkonsentrasjoner og testes har lavere tetthet enn ovariene hos hunner. Den mangler svømmeblære og myoglobin, og innehar en stor sugekopp på buken, som er formet av en modifisering av bukfinnene (Davenport & Kjørsvik 1986) (Figur 6). Rognkjeks har en karakteristisk kroppsfasong (Figur 4). Den er svært kompakt, noe som får den til å se tykk og kort ut, og den har verken skjell eller et fremtredende hud-lag som sett hos andre arter. Den har en kort og avrundet snute, tre langsgående rekker av ”pigger” på hver side av kroppen, samt de samme ”piggenes” dorsalt fra hodet, over kammen og ned til halefestet. Høyden på kammen øker med alder. (Davenport 1985). Det er en utpreget kjønnsmessig størrelsesforskjell mellom hunner og hanner hos arten. Hunnen er størst, mens hannen er noe mindre. De største voksne rognkjeksene er cirka 60 cm og veier 5-6 kg, og de lever vanligvis til de er rundt 7-8 år (maks 15) (Durif 2014). Hunner og hanner har samme farge det meste av året, og man finner de i hele spekteret fra grå, brun, grønn, blå og turkis. Men under gytesesongen har kjønnene forskjellig farge da hannen skifter til å bli rød-rosa (figur 5) i denne perioden. Det viser seg også at fiskens blodserum har samme

farge som fiskens utside, og man ser at fargen i fiskens hud, subkutane "gele" og blodplasma henger sammen (Davenport & Thorsteinsson 1989) (Figur 1 b). De lyseste individene har blank plasma, brune noe mer gulaktig, og blå og turkis har likedan blå og turkis plasma.

Kjønnsmodne rød-rosa hanner har lilla blodplasma. (Figur 5). Per i dag kjenner man ikke strukturen til disse fargepigmentene.

Gytingen foregår på steingrunn i den sublittorale sonen, hvor hunnene (rognkjeks) rask forlater området, og forlater hannen (rognkallen) igjen for å vokte over de befruktede eggene i 6-8 uker, til de klekkes. Yngelen spiser hoppekreps, tanglopper og børstemark (Daborn and Gregory, 1983), mens voksen fisk har krepsdyr, ribbemaneter og havbørsteormer som hovedføde (Kudryavzeva, 2008). Imidlertid klassifiseres denne arten omnivor og særdeles opportunistisk, og tilpasser fôringsmønsteret til det som måtte finnes i omgivelsene etter årstidsvariasjon og tilgjengelighet. Dette bekreftes i studier gjort i laksemerder der man har funnet store mengder lakse-pellets i magesekken hos dissekerte rognkjeks, Disse funnene er ikke overraskende, da lakse-pellets konstant tilføres merdene og er svært tilgjengelige for fisken (Imsland et al. 2014c). Studier har også sett på om rognkjeksens konsum av lakse-pellets har negativ påvirkning på laksens vekstfaktorer. Der det var små rognkjeks i merden kunne man ikke finne noen negativ effekt på laksens vekst eller fôromsetning (Imsland et al. 2015). Disse resultatene indikerer at sameksistensen til Atlantisk laks og rognkjeks i oppdrettsmerder avhenger av størrelsen på rognkjeks, og viser at store rognkjeks kan ha en negativ effekt på laksens vekstfaktorer og fôromsetning grunnet økt konkurranse om lakse-pellets. I kontrast så man ingen negativ effekt på veksten til laksen i grupper der man hadde små laks sammen med små rognkjeks. Men man så imidlertid at størrelsen på rognkjeks har en innvirkning på beitingen av lakselus. Små rognkjeks viste tydelig høyere effektivitet på beiting av lus enn store individer (Imsland et al. 2014). Både i laksemerder og i vill tilstand observerer man at rognkjeks bruker det meste av dagen på jakt etter mat, avbrutt av hvileperioder der den oppholder seg i eller like under flytende sjø-gress og tang. Det er også rundt slike flytende mikrofaunaer den finner mye av føden sin i vill tilstand og det virker til å være et viktig habitat for fisken, spesielt som beskyttelse mot vær og predatorer det første leveåret (Imsland et al. 2015).



**Figur 4.** Rognkjeksens utpregede utseende og farge. Bilder: Caroline Navjord.



**Figur 5.** Venstre panel: Gyteklar hann med den karakteristiske rød-rosa fargen. Høyre panel: Blodplasma fra rognkjeks i forsøket. Bilder: Caroline Navjord



**Figur 6.** Venstre panel: Rognkjeks som bruker sugekoppen til å feste seg. Høyre panel: Rognkjeks i forsøk 1 fordelt på de 4 akklimatiseringstankene. Bilder: Caroline Navjord

I Norge har kommersiell fiske etter rognkjeks foregått siden 1950-tallet (Bertelsen, 1994). Fisket er naturlig nok sesongbasert, da det er rognen fra fisken som utnyttes kommersielt. Denne saltet og brukes til produksjon av kaviar. Fisket foregår hovedsakelig i de tre nordligste fylkene (Torstensen, 1988). De gyteklare hunnene fanges langs kysten i kjente gyteområder med garn fra småsjarker og foregår kun korte deler av året, i 5-6 uker, fra April til midten av Juni (Bertelsen, 1994). Data tyder på at større individer gyter tidligst i sesongen, hvor deretter mindre individer ankommer utover i sesongen (Torstensen, 1988). 200-800 båter deltar hvert år i denne korte fangstsesongen, med individuelle båtkvoter på 1.5-2.5 tonn hver. I 1940 lå den russiske fangsten på rundt 15.000 tonn rognkjeks (Rusyaev, 2000), mens nå i senere tid er den vesentlig lavere, og det russiske kystfisket i Barentshavet og Kvitsjøen lå i 2014 samlet på rundt 15-50 tonn (Eriksen et al. 2014).

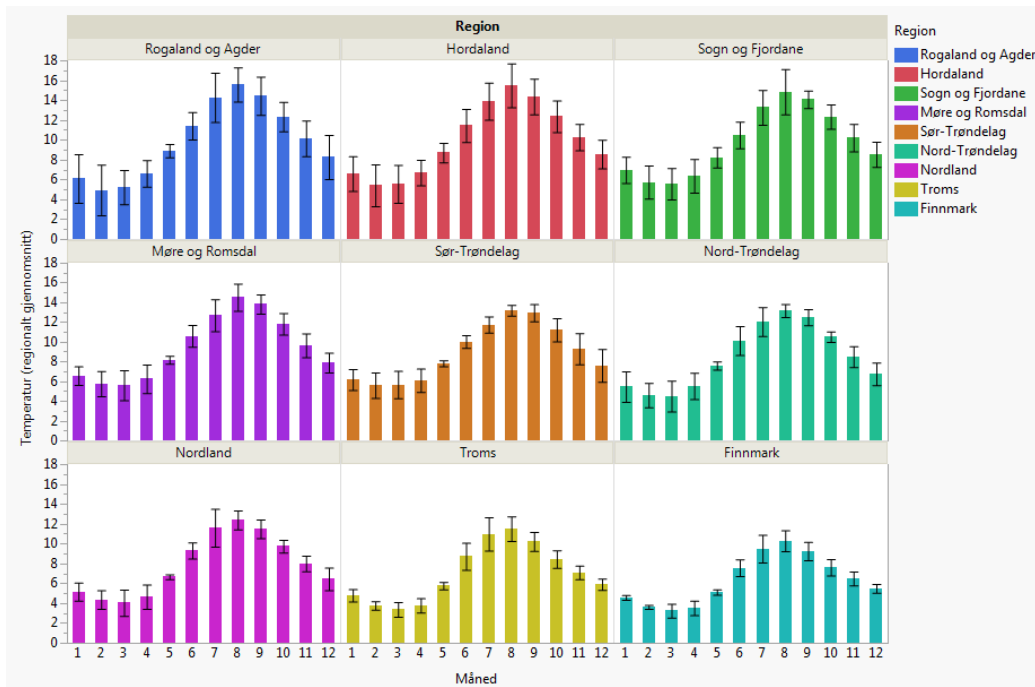
Det er ikke så stor utbredelse av virusinfeksjoner på rognkjeks beskrevet enda, men bakterieinfeksjoner har vist seg å være et stort problem. IPN-virus, ulike vibrioarter og atypisk furunkulose viser seg å lett få feste hos arten, og de mest aktuelle man ser i dag er atypisk *A. salmonicida*, *Pasteurella* sp., *Vibrio anguillarum*, *Pseudomonas anguilliseptica*, *Vibrio ordali*, *Moritella viscosa*, og *Tenacibaculum* sp. Man har dessuten sett soppinfeksjon forårsaket av *Ichthyophonus hoferi* på innsendt materiale fra rognkjeks i 2014. Fisken hadde symptomer med skade på gjeller, muskulatur og milt i dette tilfellet. Arten er vert for en stor mengde parasitter, og man har funnet *Trichodina* spp. (ciliater), *Ichthyobodo* spp. (flagellater), og *Gyrodactylus* sp. (Monogenea). *Paramoeba perurans* er også funnet på rognkjeks, en parasitt som kan smitte fra laks til rognkjeks når de går sammen i merdene. Det er derfor svært viktig å holde disse sykdommene nede med tanke på smitte mellom artene. Atypisk furunkulose ser ut til å være den viktigste årsaken til dødelighet hos arten etter utsett i sjø, men dessverre har vaksinering per i dag liten effekt på arten, og det er stort behov for å utvikle mer effektive vaksiner (Veterinærinstituttets rapportserie 2, 2016) for å kunne optimalisere bruken av arten og holde sykdomspresset nede.

#### **1.4 TEMPERATURTOLERANSE HOS FISK**

Fisk er kaldblodige, og kroppstemperaturen er strengt regulert av miljøet det lever i. Endringer i vanntemperatur kan derfor ha stor effekt på organismens vekst, reproduksjon og overlevelse, og alle arter har forskjellige strategier for å takle endringer i temperatur til kritiske nivåer.

Temperatur påvirker alt fra enzymatiske reaksjoner, hormonell kontroll, nervekontroll, fordøyelse, respirasjon, osmoregulering, og generelt alle aspekter av organismens evne til ytelse og adferd. Alle fiskearter har en øvre og nedre temperaturgrense, hvor arten innenfor disse grensene fungerer på sitt optimale eller nært dette. Her møtes artens krav for optimal vekst, og det er innenfor denne temperaturgrensen arten er mest utbredt i vill tilstand. Utenfor denne temperaturgrensen er det soner av fysiologisk stress for arten, Man finner den færre steder ettersom aktiviteten begrenses av temperaturene som fører til ubehag eller stress, og perioden organismen kan leve under slike sub-optimale forhold er en funksjon av hvor langt temperaturen er fra grensen hvor den er dødelig for arten (<http://sciencefairwater.com>). Det er derfor svært viktig at akvakulturanlegg tar hensyn til artens temperaturbehov. Temperaturen i en merd er bestemt av anleggets beliggenhet (figur 7 viser gjennomsnittlig månedlig temperatur i 9 fylker i Norge i perioden 2011 til 2015) sammen med vær, strøm og sesong. Lokaltiteter med store og hyppige variasjoner i vanntemperatur kan være uheldig ut fra et velferds –og helseperspektiv, og Mattilsynet har utarbeidet strenge retningslinjer for hver arts temperaturbehov og hvordan man skal tilpasse miljøet i oppdrettsanlegget ([https://www.mattilsynet.no/fisk\\_og\\_akvakultur](https://www.mattilsynet.no/fisk_og_akvakultur)). Økt temperatur i vannet senker løseligheten av oksygen, og tilgjengeligheten for fisken avtar. Fiskens metabolisme øker, og respirasjon og oksygenbehov vil cirka dobles ved økning på 10 grader, altså vil behovet for oksygen øke mens oksygen blir vanskeligere å få tak i. Forurensning av vannet av sopp og alger øker ved økte temperaturer. Alle arter har en maksimumsgrense for temperaturtoleranse som, hvis overskredet fører til død. Denne grensen varierer mellom arter og endrer seg noe i forhold til akklimatisering, tilgjengelighet på oksygen og synergistisk effekt fra forurensning i vannet (<http://sciencefairwater.com>). Lave temperaturer kan også være et problem, da dette fører til lav enzymaktivitet, som igjen kan føre til problemer mellom næringsopptak og forbruk hos fisken. Fisken vil fortsatt forbruke energi, men fordøyelsesenzymene vil ikke virke, og dette fører til et mislighold mellom dette energiforbruket og evnen til å ta opp energi. For lave temperaturer kan dessuten føre til et skjevt forhold mellom den aktive ionetransporten og den passive diffusjonen av ioner over gjellene. Den aktive transporten vil bli redusert på grunn av nedsatt enzymaktivitet, men den passive diffusjonen vil ikke påvirkes like mye ([http://www.statkraft.no/GLOBALASSETS/OLD-CONTAINS-THE-OLD-FOLDER-STRUCTURE/DOCUMENTS/NO/13---LAKS-OG-TEMPERATUR--EN-LITTERATURGJENNOMGANG\\_TCM10-4208.PDF](http://www.statkraft.no/GLOBALASSETS/OLD-CONTAINS-THE-OLD-FOLDER-STRUCTURE/DOCUMENTS/NO/13---LAKS-OG-TEMPERATUR--EN-LITTERATURGJENNOMGANG_TCM10-4208.PDF)).





**Figur 7.** Gjennomsnittlig månedlig temperatur (°C) rapportert fra alle aktive oppdrettsanlegg i 9 fylker i Norge fra 2011 til 2015 (Lagd av Torstein Kristensen, tall fra Lusedata 2015)

## 1.5 SVØMMING AV FISK I AKVAKULTUR

Nyere forskning viser en klar sammenheng mellom såkalt ”sustained” eller vedvarende svømming som fysisk trening, vekst og velferd hos visse fiskearter. Fordelene har vist seg å være raskere vekst, mer effektiv fôromsetning, bedre utvikling av muskel –og skjelett, mer effektiv osmoregulering, lavere konsentrasjoner av kortisol i plasma, økt sykdomsresistens, og slik til slutt økt velferd hos fisken. Det er imidlertid forskjell mellom artene og det foreslås at variasjonene kommer fra hver arts distinkte måte å takle stress på. Forskjellen i kortisolresponsen hos fisk svømt på denne måten kan gi en indikasjon på hvor store fordeler arten kan ha av svømming. Aktive arter som salmonider har vist seg å ha svært god fysiologisk effekt av denne typen vedvarende svømming, noe som leder til hypotesen om at fisk med høy ”metabolic scope” vil ha klare fordeler av et svømme-treningsregime. Typen stresshåndtering kan også si noe om individuelle forskjeller på hvilken svømmehastighet som optimaliserer vekst ( $U_{opt}$ ). Mulige linker mellom svømming av fisk og velferd inkluderer også adferdsendringer, slik som redusert aggresjon, og potensielt lavere nivåer av angst og redsel. De inkluderer også økt evne til å oppfatte omgivelsene og slik gi fisken bedre mulighet til å forutse hendelser på grunn av økt neurogenese. Hos pattedyr, og også muligens hos fisk,

oppleves muligheten for frivillig bevegelse, her svømming, som givende, noe som skaper en mulig link til følelsesbasert velferd (A. Palstra, J Planas, 2013).

## 1.6 STRESS

Stress er et stort problem i dagens oppdrettsnæring som har store innvirkninger på hvor godt fisken tåler påkjenninger med håndtering, sykdomspress og andre fysiologiske påkjenninger den utsettes for. Definisjonen på stress er at det er en form for truet homeostase, som kroppen prøver å gjenopprette ved hjelp av et kompleks av responser. Det karakteriseres som en organismes respons på en belastning fra miljøet, som fører til en endring i den fysiologiske likevekten ut over de normale verdiene ved hvile (Iwama et al. 1997). En såkalt "stressor" er betegnelsen på en faktor som forstyrrer homeostase (Johnson et al. 1992). Stress deles i to grupper; akutt stress og kronisk stress.

Akutt stress, er en plutselig, forbigående korttidsbelastning fra miljøet, og ofte er denne stressoren forsvunnet før kompensasjonen er oppnådd. Typisk kan det være håndtering i kar, lasting og lossing ved transport, eller manglende sedering ved håndtering og behandling. De fysiologiske responsene ved akutt stress deles inn i primær, sekundær og tertiær og er en sammensatt respons på ulike nivåer av biologisk organisering (celle, vev, individ, populasjon og økosystem) (<http://www.vkm.no/dav/c22a3c08fe.pdf> side 30). Den primære stressresponsen inntreffer i løpet av sekunder og er knyttet til nervøse og neuro-endokrine endringer som aktiverer hypofyse interrenal aksens (heretter referert til som HPI-aksen). Den nervøse responsen frigir katekolaminer fra kromafine celler i hodenyren mens aktivering av HPI-aksen styres av frigjøring av adrenokortikotrop hormon (ACTH) fra adenohipofysen. Denne stimulerer deretter produksjon og frigjøring av kortikosteroider (hovedsakelig kortisol) fra det interrenale vevet. Den sekundære stressresponsen er en konsekvens av den primære responsen og inntreffer etter en times tid. Hovedmålet med denne responsen er å generere energi og det ses for eksempel på endringer i blodkjemien hos fisken. Plasmaglukose og laktatnivåer øker for å brukes som energi. Det skjer dessuten også endringer i energi-lagrende vev, blant annet reduksjon i leverglykogen, muskelproteiner, og etter hvert også fettvev. I gjellene vil det oppstå rekruttering av sekundærlameller for å øke oksygenopptaket, som ofte kan føre til osmotisk ubalanse (<http://www.vkm.no/dav/c22a3c08fe.pdf> side 31). Den tertiære stressresponsen inntreffer etter flere timer, og har konsekvenser for hele organismen, det kan være endringer i

vekst, reproduksjon, immunrespons, adferd, og til slutt overlevelse (Bonga, 1997; Barton, 2002). Kortikosteroider bidrar til at stress undertrykker immunologiske responser hos fisk (Einarsdottir et al. 2000; Jentoft et al. 2002), påvirker reproduksjon (Morgan et al. 1999), og senker vekst og overlevelsesrater (Pickering, 1993; Jentoft et al. 2002).

## 1.7 GJELLER

Gjeller er et av de viktigste organene hos fisk, da de utfører en rekke viktige oppgaver, slik som gassutveksling, syre-base balanse, osmoregulering og ioneregulering. Gjellene er direkte eksponert for vannet fisken lever i, og grunnet denne kontakten sekreterer gjellene slim fra slimceller. Dette slimet opptrer som en fysisk barriere som forhindrer mikroorganismer og sykdom fra å slippe inn gjennom gjellene. Slimet spiller også en viktig rolle i ioneregulering og diffusjon, samt at slimet holder gjellene fuktige/smurte (Diler et al. 2009). Gjellene er primærorganet for gassutveksling i de fleste fisk, og opptak av O<sub>2</sub> involverer diffusjon langs en konsentrasjonsgradient fra vannstrømmen, over gjelle-epiteliet til blodet. Denne prosessen beskrives av *Fickligningen*:

$$VO_2 = (K * A * \Delta PO_2) / t$$

Hvor VO<sub>2</sub> er raten av oksygenopptak, K er diffusjon, eller Kroghs *koefisient*, A er det respiratoriske arealet av gjellene, ΔPO<sub>2</sub> er gjennomsnittsforskjellen i partialtrykk på oksygen (1/4 oksygenspenning) mellom blod og vann, og t er diffusjonsavstanden.

De fleste fisk har 4 gjellebuer som er bilateralt plassert på hver side av munnhulen. Hver gjellebue har 2 rader av gjellefilamenter. På hver side av filamentbladene finner man rader av respiratoriske folder som kalles lameller hvor disse har en plate-formet morfologi som er utformet for å maksimere overflateområde og minimere diffusjonsavstand, og slik tillate rask og effektiv gassutveksling mellom vann og blod. Blodet som strømmer i motsatt retning av den ventilierende vannstrømmen presses gjennom lamellene på grunn av plasseringen av spesialiserte pilarceller som strekker seg gjennom blodlumen og fester det respiratoriske epiteliet på begge sider. Den lamellære vann/blod-barrieren består typisk av to eller flere lag av epitelieceller, en kjellermembran og pilarceller, som sammen former den indre fôringen av lumenveggen. Den inneholder også ofte slimceller og mitokondrierike celler som er involvert i syre-base balanse (Wegner 2014).

## 1.8 METODIKK

Bruk av svømmetuneller muliggjør observasjon og kvantifisering svømmende fisks fysiologi og adferd på en måte som ikke lar seg gjøre ved å observere fisk som svømmer i åpent vann. Strømhastigheten kan kontrolleres og man kan koble diverse måleinstrumenter til fisken for slik å kunne måle et stort antall fysiologiske parametere. Man kan dessuten måle utveksling av materiale mellom fisk og vann, slik som  $O_2$  og  $CO_2$ . Dette kan bidra til å gi oss verdifull data på fiskens helse og "fitness". Så godt som alt vi i dag vet om fisks bevegelse, muskelbruk, energimetabolisme, syre-base balanse og hydrodynamikk under vedvarende svømming har man fått fra bruk av svømmetuneller. De klassiske metodene for å måle aerob ytelse under svømming og energi gjør bruk av å kartlegge vedvarende foretrukket svømmekapasitet ( $U_{pref}$ ) og kritisk svømmehastighet ( $U_{crit}$ ). Anaerob ytelse under svømming kan måles ved å kartlegge akselerasjon under "bursting" og maks svømmehastighet ( $U_{max}$ ). Optimal svømmehastighet ( $U_{opt}$ ) brukes ofte for å definere svømmehastigheten en art bør holdes på for å optimalisere vekst, og vises som hastigheten der den metabolske svømmekostnaden (Cost Of Transport, heretter referert til som COT), er lavest for fisken.  $U_{opt}$  estimeres vanligvis i en svømmerespirometer, ved å måle den masse-spesifikke raten av konsumert  $O_2$  ved forskjellige svømmehastigheter. Ved å plote mengden  $O_2$  brukt per unit avstand, mot svømmehastighet, får man typisk en U-formet kurve med  $U_{opt}$  representert som hastigheten med lavest  $O_2$  konsum, der altså COT er lavest. Forskning viser at fisk vanligvis selv velger å svømme på  $U_{opt}$  for å slik minimere den metabolske kostnaden ved rutineadferd og/eller under migrasjon over lengre avstander. Det er derfor ikke helt usannsynlig å anta at vekst kan optimaliseres ved å holde fisk i oppdrett på sin arts  $U_{opt}$  for slik å minimere COT og bevare dens energibruk innenfor fiskens Metabolic Scope, heretter referert til som MS. MS kan oversettes som fiskens aerobiske metabolske omfang til å gjøre fysisk arbeid, og ble først definert av Fry i 1947, som forskjellen mellom MMR (Maksimum Metabolsk Rate), og SMR (Standard Metabolsk Rate). MMR begrenser seg selv ved at hypoksi (lave/synkende oksygennivåer i miljø og vev) gjør seg gjeldende og  $SMR = MMR$  ved  $P_{crit}$  (kritisk oksygenmetningsnivå). SMR er anaerob metabolisme og forklarer den minimale raten av oksygenopptak som kreves for å støtte opprettholdelse av de essensielle funksjoner hos kaldblodige organismer. Under hypoksi, kan fisk typisk bruke fysiologiske responser for å opprettholde oksygenopptak ved eller over SMR, helt til nivåer der terskelen for mengde kritisk oppløst oksygen (DO), på engelsk kalt "critical  $O_2$  partial pressure" ( $P_{crit}$ ), eller metning ( $S_{crit}$ ). Under denne kritiske terskelen klarer ikke fisken

å opprettholde vedlikehold av egen metabolisme, og dens metabolske rate blir avhengig av oksygennivåene i miljøet den befinner seg i. Mens SMR opprettholder kjernefunksjonene i fisken, er alle andre funksjoner, slik som vekst, reproduksjon og svømmeaktiviteter avhengige av evne til å øke oksygenopptak –og levering over verdiene for SMR, og innenfor begrensningen av MS. Fisk må balansere mange metabolske krav i organismen, og svømming er en energikrevende prosess. Hypoksi begrenser fiskens MS ved at den nedsetter evnen til å prestere i oksygenkrevende aktiviteter som svømming. Slike begrensninger for MS gjør at fisken tvinges til å ta avgjørelser på hvordan den best kan utnytte og bruke oksygenet den har tilgjengelig. Adferds-responser drives derfor sannsynligvis av de fysiologiske effektene av hypoksi. Det er svært viktig at fisken innehar en godt tilpasset fysiologisk respons til situasjoner der den befinner seg i oksygenfattige omgivelser, ettersom mangel på dette kan ha en alvorlig effekt på overlevelsessevnen og raskt føre til dødelig utgang (A. Palstra, J Planas, 2013).

## **1.9 MÅLET FOR OPPGAVEN**

Målet for oppgaven var å undersøke svømmekapasiteten til rognkjeksene både når den fikk svømme med sugekoppen i behold, og når den ble fratatt muligheten til å feste seg ved to ulike temperaturer, henholdsvis 7 og 13 °C, for å se om det var noen forskjell på svømmekapasiteten på disse to temperaturene. Man ville også se om det var noen definert forskjell i svømmekapasiteten basert på størrelse på fisken. Dette for å kartlegge optimale svømmeforhold for arten med tanke på å se på hvordan den klarer seg på forskjellige strømhastigheter. Den blir jo satt ut i merder sammen med Atlantisk laks, som fysiologisk sett er mer strømlinjeformet og dermed hypotetisk sett bør ha en noe høyere svømmekapasitet enn rognkjeksene med sin mer klumpete kroppsfasong. Merdene er store og har ikke så mange steder for rognkjeksene å suge seg fast på om den skulle bli utmattet i sterk strøm, og effekten av dette ville vi se nærmere på ved å frata den muligheten til å bruke sugekoppen.

## **2. MATERIALE OG METODE**

### **2.1 GJENNOMFØRELSE AV FORSØKET**

Forsøket ble utført ved Mørkvedbukta forskningsstasjon i Bodø, Norge våren 2016, i henhold til den norske regulering av dyreforsøk (FOR-1996-01-15-23) og den norske dyrevelferdsloven (LOV-2009-06-19-97), FDU nummer 7835. All håndtering av dyrene i forsøket ble utført av godkjent personell med FELASA C-sertifikat.

### **2.2 FORSØKSDYR**

Rognkjeksene som ble brukt i forsøket var klekket i mai 2015 ved Arctic Cleaner Fish i Stamsund, Lofoten. Fisken ble holdt i ventetanker med sjøvann på temperaturer på 7-10 °C før forsøket. Oksygenivået ble regulert til over 80% til enhver tid, og lys i hallen var på 24 timer i døgnet fra ankomst Mørkvedbukta og gjennom hele forsøket.

### **2.3 AKKLIMATISERING OG HÅNDTERING**

Akklimatiseringstankene brukt i forsøket var grå fiberglasstanker med vannvolum på 400 liter, og vanngjennomstrømning på 125 L/time. Det ble hentet ut totalt 160 individer med vekt på 75-640 gram fra ventetankene, hvorav 118 fisk ble brukt i forsøket. I hvert av de to svømmeforsøkene ble 2 grupper fisk tilfeldig fordelt på 4 akklimatiseringstanker (figur 5) med N=20 i hver tank og satt på henholdsvis N=40 på 7 °C og N=40 på 13 °C. I forsøk nummer 1 ble de synlig minste fiskene N=80 i ventetankene brukt. Og i forsøk nummer 2 ble de synlig største fiskene N=80 fra ventetankene brukt. Akklimatiseringstid var 7 dager for alle fisk før svømmeforsøk. For fisk som gikk på 13 °C ble to av disse dagene brukt til temperaturøkning fra 7 til 13 °C ved hjelp av gradvis tilsetning av oppvarmet sjøvann i akklimatiseringstankene. Fôring ble stoppet 24-48 timer før hvert forsøk. Den akklimatiserte fisken som ikke ble brukt (10 stk), ble avlivet med en overdose av 300 mg/L MS-222 (Finquel vet. 100%, ScanVacc)

etter endt forsøk.

Fisken ble under hele forsøket håndfôret 2 ganger daglig med Amber Neptun 3 mm (Skretting, Norway), og den ble daglig røktet. Røktingen inkluderte rengjøring av tanker ved å fjerne avføring og overskuddsfôr, samt måling av temperatur og oksygenivå i avløp i både ventetanker og akklimatiseringstanker hver morgen, ved hjelp av et håndholdt Optical Dissolved Oxygen Meter (YSI ProODO). Temperatur i akklimatiseringstankene ble justert hvis man fant avvik på mer enn  $\pm 0,5$  °C.

## **2.4 PROSJEKTER OG FORSØKSPROTOKOLL**

Måle svømmekapasitet ved bruk av 90 L Loligo svømmetunnell. Måle vekt, høyde, bredde og lengde. Ta blodprøve og måle laktatnivå og glukosenivå i blod ved  $U_{crit}$  samt nullprøver hos ustresset fisk. Ta ut finne-prøve for eventuell genetik. Ta ut hjerte, gjelleprøve og prøve fra brus-kam for eventuell histologi. Kjønnbestemmelse ble til slutt utført ved disseksjon av fisken.

Nullprøver ble tatt ut i 2 omganger fra fisk i akklimatiseringstanker. Det ble målt vekt, lengde, høyde og bredde, og fisken ble kjønnbestemt. Det ble tatt blodprøver for måling av laktatnivå og glukosenivå i ustresset fisk. Videre ble det tatt mucusprøver av fisken, gjort av Phd-student Deepti Patell og masterstudent Neville Piinto for videre analysering i annet prosjekt.

Histologi av gjeller for beskrivelse og klassifisering av eventuelle skader eller andre funn. Snittene ble beskrevet og klassifisert etter alvorlighetsgrad med en skala 0-3 (0=ingen synlige skader, 1=milde skader, 2=moderate skader, 3=omfattende/total skader) basert på Mitchell et al. 2012, som gjorde en slik studie på gjelleskader hos Atlantisk laks for å utarbeide en metode for vurdering av helse på gjeller og sykdom.

Skadene man så etter var følgende: hevet respiratorisk epitelium (indikerer væske under epitelium), opphopning av kapillærer (økning i kapillærenes diameter), hyperplasi på celler (økning i antall celler), hypertrofi på celler (økning i diameter på cellene), og delvis eller total fusjon av sekundærlameller.

### 2.4.1 SVØMMEKAPASITET

Ved hjelp av Høntzsch Flow measuring instrument HFA ble svømmetunellen (figur 8) kalibrert før den ble tatt i bruk begge forsøkene. Det ble målt flow i 4 seksjoner (foran, høyre, venstre, bak).

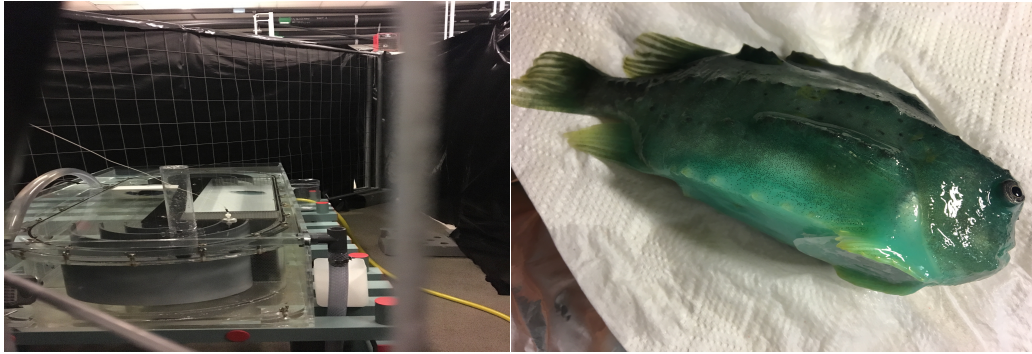
Oksygenmåler PreSens ble kalibrert til 0% O<sup>2</sup> ved å tilsette Natriumhydrogensulfitt (NaHSO<sub>3</sub>) i 0,3 dl vannbeholder med rent vann og la stå 10 min før kalibrering. Akvariumspumpe ble brukt i 3 dl vannbeholder med rent vann under kalibrering for å få 100% O<sup>2</sup>.

Hver fisk ble målt lengde, bredde og høyde på før den ble satt inn i svømmetunellen. Dette ble plottet inn i Autoresp for å regne ut individuell vannmotstand fisken utgjorde i tunellen.

PreSensproben ble beholdt på plass under hele forsøket for å dokumentere stabile oksygennivåer i svømmetunellen. Det ble brukt kroppslengde per sekund for å måle hastighet i svømmetunellen. Dette ble konvertert over til volt i Microsoft Excel og det ble brukt Fluke 112 True RMS Multimeter til å måle volt direkte i strømuttaket da Loligosystemet viste seg å være for unøyaktig. Det ble arrangert et lys-isolert avgrenset område rundt svømmetunellen ved å sette et opp 2 m høyt gjerde med sorte søppelsekker stripset på (Figur 6), for å hindre at fisken ble visuelt forstyrret.

Hver fisk ble hentet fra akklimatiseringstank, målt lengde, høyde og bredde på for hånd og deretter satt inn i svømmetunell for 30 min akklimatisering på 0,5 kl/sek (kl=kroppslengder) før svømming. Halvparten av fisken som ble svømt (tilfeldig utvalgt N=44) fikk limt parafilm på sugeskoppen ved hjelp av superlim (figur 8) inspirert av Killen et al. (2007) som gjorde en lignende studie på arten, før den ble satt på 30 min akklimatisering i svømmetunell, for å undersøke svømmekapasiteten når den ble fratatt muligheten til å feste seg. Fiskens adferd i svømmetunellen ble notert for hvert individ for å gradere svømmeadferd mellom svømmer/ikke svømmer og videre for svømmere; burstsvømming/jevn svømming.





**Figur 8.** Venstre panel: Oppsett av Loligo svømmetunell i lys-isolert område på laben i Mørkvedbukta. Høyre panel: Rognkjeks med parafilm limt på sugekoppen for å hindre den i å feste seg. Bilder: Caroline Navjord

Protokoll var å gjøre første hastighetsøkning fra akklimeringshastighet 0,5 kl/sek til 1,5 kl/sek i forsøk nummer 1 (vekt 70-158 gram) og fra akklimeringshastighet 0,5 kl/sek til 1 kl/sek i forsøk nummer 2 (vekt 274-640 gram) og deretter øke hver hastighet (0,25 kl/sek) hvert 20 min (herav 2 min flush hvor nytt vann ble ført inn i svømmekammeret, 1 min venting hvor vannet stabiliserte seg, og 17 min måling av svømming). Forsøket ble avsluttet for hvert individ når den hadde ligget urørlig på rista 10 sammenhengende sekunder. Protokollen baserte seg på Killen et al. (2007) og Svendsen et al. (2016).

Etter svømming ble fisken bedøvd i bøtte med sjøvann og MS222 (100 mg/L). Det ble raskt tatt blodprøve (ca 1 ml) fra kaudalvenekomplekset (figur 9) for laktatmåling med Alere lactate pro laktatmåler og Alere lactate målestrips, samt glukosemåling med Aviva Accu-Chek og Aviva Accu-Chek strips, etter tap av bevissthet, og deretter ble den slått i hodet for endelig avliving. Det ble så tatt ut genprøve fra pektoralfinne (ca 1x1 cm bit ytterst fra venstre finne) som ble lagt i kryorør med 100 % alkohol. Hjerter (ventrikkel og bulbus) ble tatt ut og tømt for blod på en bit papir, en bit av indre gjellebue (ca 1x1 cm) samt en bit av ryggkammen (høyeste punkt på fiskens rygg, ca 1x1 cm) ble også tatt ut, alt med kirurgisk pinsett og skalpell, for senere eventuelle histologiske undersøkelser. Disse ble umiddelbart lagt i 50 ml plastrør på 4 % formalin (1 del vev: 10 deler formalin). Til slutt ble fisken kjønnsbestemt ved inspeksjon av gonader etter disseksjon.



**Figur 9.** Blodprøve fra kaudalvenekomplekset.  
Bilde: Caroline Navjord.

#### 2.4.2 SERUM PIGMENTERING

Som et forsøk i å prøve å kjønnsbestemme rognkjeks ved analysing av farge i blodplasma, ble plasma fra blodprøvene tatt av fisken i forsøket analysert sammen med kjemiker Einar Skarstad Egeland ved Nord Universitet.

Følgende ID ble tilfeldig utvalgt til analyse i HPLC-maskin for ”høytrykks væskekromatografi”, en metode som separerer, identifiserer og kvantifiserer alle komponenter i en væske ([https://en.wikipedia.org/wiki/High-performance\\_liquid\\_chromatography](https://en.wikipedia.org/wiki/High-performance_liquid_chromatography)): TEST M, 36F, 47M, 48F, 49M, 52M, 53F, 57F, 63F, 69F, 73F, 80F, 83M. Disse ble satt til analyse i HPLC over natt, etter pipettering direkte over i HPLC-glass merket med ID, kjønn og visuell fargeindikasjon: Lilla, Blå, Lys blå, Blank. Maskinen klarte imidlertid ikke lese av prøvene, muligens grunnet for tykt stoff, noe som kan bety for mye proteiner i prøvene ifølge Einar Skarstad Egeland. Plasmaen ble derfor filtret med 1 ml sprøytepumpe og *aerodisc syringe*-filtre ved hjelp av glasspipette og pipetteballong til nye HPLC-glass. Maskinen klarte da kun å analysere 8 av disse prøvene. Der så det ut som det bare var ett fargestoff i alle prøvene. De lilla, blå og de blanke inneholder samme fargestoff, men i forskjellige mengder. Mest i den lilla (kjønnsmoden hann) Det ble en enkel gjort pH-test på 4 andre prøver. Det ble tilsatt svak syre (eddiksyre, pH ca 2,5) og base (kalsiumhydroksid  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  i vann, pH ca 12) til henholdsvis 2 blanke + 2 blå prøver, først dråpevis, deretter i hele. Eneste synlige endring etter tilsatt syre/base var ørlite ”forhvitning”/fortykning av den blanke prøven ved tilsetning av syre, men det kan være bunnfall, da det var en liten prøve (lite plasma). Ellers ingen umiddelbar reaksjon

på verken syre eller base. Deretter ble alle prøvene analysert i spektrofotometrimaskin (*Cary 100 conc UV visible spectrophotometer*), som kvantifiserer målinger av refleksjon og overføringsegenskaper av et materiale som en funksjon på bølgelengde (<https://en.wikipedia.org/wiki/Spectrophotometry>). Dette for å få kartlagt nøyaktig bølgelengde på fargestoffene i plasmaen. De fleste prøvene måtte tynnes ut med vann for å mengde-messig ha nok til glassene som hører til maskinen. Dette ble gjort ved å veie prøven, nulle vekta, fylle på med vann, veie igjen og notere alt for å ha oversikt over hvor fortynnet hver enkelt prøve er. Dette ble gjort på 100 tilfeldig valgte prøver.

### **2.4.3 HISTOLOGISKE ANALYSER AV GJELLER**

Det ble bestemt at av de histologiske prøvene tatt ut skulle kun gjellene brukes, og disse skulle brukes som en beskrivende del av oppgaven for å klassifisere funn og eventuelle skader.

Gjellene, som var fiksert på formalin, ble lagt i prøvekasetter og dehydrert i alkohol og Xylen. Dette ble gjort på følgende måte: 1 time 50% EtOH, 1 time 70% EtOH, 1 time 80% EtOH, 1.5 time 96% EtOH, 1.5 x 2 timer 100% EtOH, and 1.5 x 2 timer Xylen. De ble deretter plassert i parafin for 2 + 3 timer i en prosesseringsmaskin (*Shandon Citadel 2000*). Så be prøvekassettene senket i parafinvoks i en liten metallform (*Leica EG 1150 H*), før de ble satt til stivning på kjøleblokk (*Leica EG 1150 C*). Gjellene ble så snittet (tykkelse 5 µm) med mikrotom (*HM 355S Automatic microtome, Thermo Scientific*). For så å bli lagt på mikroskopislides og tørket på kanten av et varmt vannbad. Parafinen ble fjernet og snittene ble farget med Hematoxylin og Eosin (HE-farging), og Periodic Acid – Schiff (PAS)/Alcian blue-farging med en slidefarger (Robot Stainer HMS 760X, Microm). He-fargingen ble gjort med følgende oppsett: 45 min oppvarming, 5 min Xylen, 5 min Xylen, 1.5 min Xylen, 3 min 100% EtOH, 1.5 min 100% EtOH, 1.5 min 96% EtOH, 3 min 80% EtOH, 1.5 min 50% EtOH, 5 min rensing, 1.5 min Hematoxylin, 5 min rensing, 1.5 min Eosin, 3 min rensing, 1.5 min 50% EtOH, 1.5 min 70% EtOH, 2 min 96% EtOH, 2 min 100% EtOH, 2 min 100% EtOH, and 1 min Xylen. Mens PAS/Alcian blue hadde programmet slik: 45 min oppvarming, 5 min Xylen, 5 min Xylen, 1.5 min Xylen, 3 min 100% EtOH, 1.5 min 100% EtOH, 1.5 min 96% EtOH, 3 min 80% EtOH, 1.5 min 50% EtOH, 5 min rensing, 1.5 min PAS, 5 min rensing, 1.5 min Alcian blue, 3 min rensing, 1.5 min 50% EtOH, 1.5 min 70% EtOH, 2 min 96% EtOH, 2 min 100% EtOH, 2 min

100% EtOH, and 1 min Xylen. Slidsene ble i etterkant oppbevart i Xylen til de skulle fikseres, de ble da smurt med Pertex-lim og dekket med cover-slides.

De histologiske snittene ble mikroskopert med et Olympus BX51 mikroskop og utvalgte slides ble fotografert for visuell analyse av eventuelle skader. Tydelige snitt ble deretter utvalgt for skadebedømmelse, og dette ble gjort sammen med Ioannis Vatsos og gradert 1-3 etter alvorlighetsgrad (tabell 2).

## 2.5 STATISTISKE ANALYSER

Ucrit ble regnet ut med følgende formel  $U_i + U_{ii} * t_i/t_{ii}$

$U_i$  = siste hele gjennomførte hastighet (bl/sek)

$U_{ii}$  = økning kroppslengde/ sek hver loop

$t_i$  = sek siste loop

$t_{ii}$  = 1 loop, altså 1380 sek i dette forsøket

Alle statistiske analyser ble gjort i samarbeid med veileder Torstein Kristensen i dataprogrammet *imp v11*. Det ble gjort Goodness-of-fit test (Shapiro-Wilk W), for å se om målte verdier av en variabel var normalfordelt. Normalfordelte verdier ble analysert ved standard en- og toveis variansanalyser (ANOVA) mens kontinuerlige variabler ble først LOG transformert før analyse. For å teste andre faktorer som kunne ha betydning for fiskens svømmevillighet men samtidig unngå for mange enkelt-tester (da dette øke sjansen for "falsk positiv"), ble analysen av disse kjørt samlet som en full-faktoriell analyse, der man så på enkeltfaktorenes effekt og eventuelle samvirkeeffekter av faktorene testet for. Kategoriske variabler ble analysert med Chi-kvadrat test (Fisher's test). Kontinuerlige variabler ble kjørt i som enveis eller toveis variansanalyse (ANOVA), etterfulgt av Tukey Kramer HSD test. Ved mer enn to faktorer ble det kjørt full-faktoriell modell som så på effekten av hver faktor og interaksjonen mellom alle samtidig og AIC (Aikake Information Criterion)-verdien ble brukt til å finne mest passende modell sammen med  $R^2$  verdi.

$\alpha$  0,05 samt 0,001 ble brukt som signifikansverdier i testene.

### 3. RESULTATER

---

#### 3.1 ADFERD OG DØDELIGHET

Man så ingen helseproblemer eller unormal adferd på fisken i verken ventetankene eller akklimatiseringstankene under forsøkets lengde. Det ble heller ikke observert dødelighet under akklimatiseringsperioden eller i forsøket.

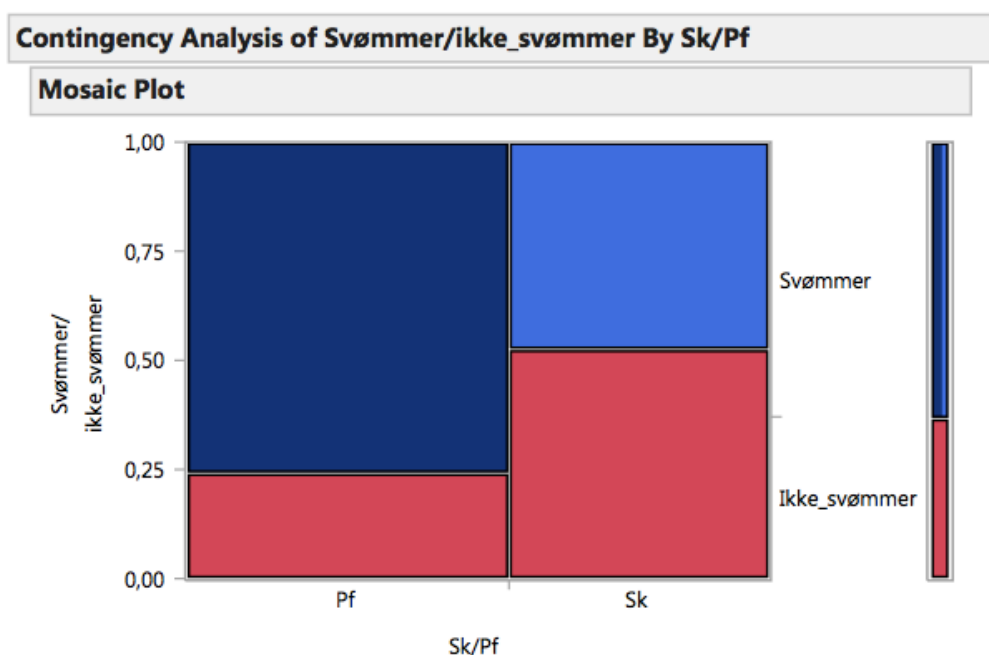
#### 3.2 SVØMMEKAPASITET

Temp	Forsøk	N	Gj.snitt (vekt)	Gj.snitt (lengde)	Total % (svømmer)
Kaldt	O_1	12	153,4 ± 13,5	15,2 ± 0,5	
Kaldt	O_2	6	315,2 ± 70,2	20 ± 1,8	
Kaldt	F_1	13	111,2 ± 21,5	13,7 ± 0,8	16,05 %
Kaldt	F_2	31	358,7 ± 55,8	21,3 ± 1,2	38,27 %
Varmt	O_1	12	125,7 ± 32,7	13,6 ± 1,1	
Varmt	O_2	6	329,6 ± 37,9	21,1 ± 0,5	
Varmt	F_1	17	135,4 ± 14,1	14,5 ± 0,7	20,99 %
Varmt	F_2	20	457,2 ± 87,5	23,3 ± 1,2	24,69 %

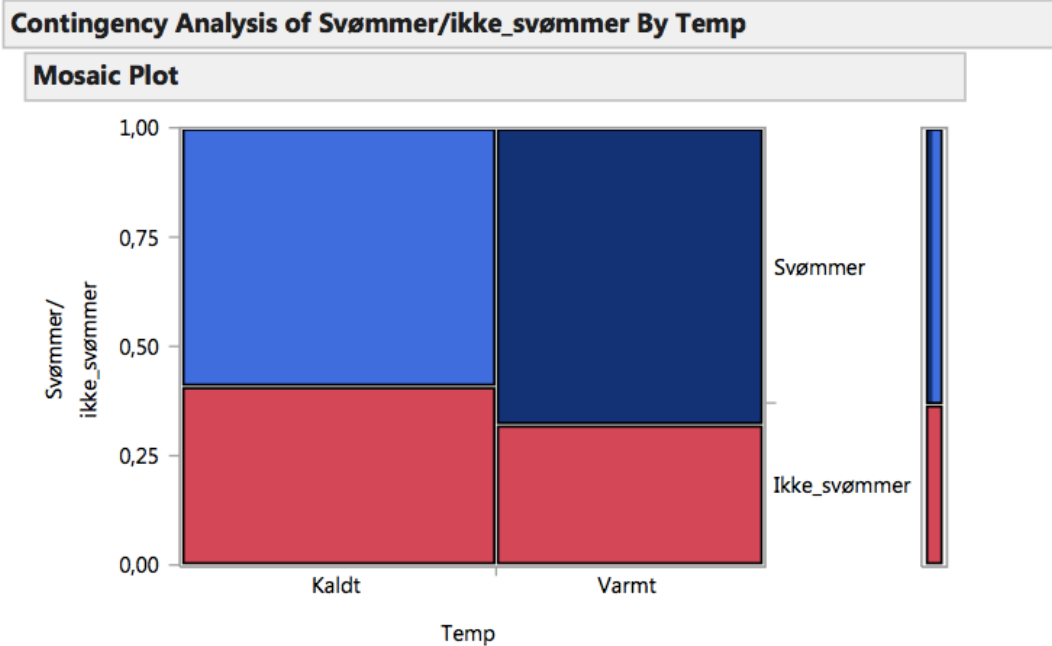
**Tabell 1.** Tabellen viser Forsøk (F1=forsøk 1, F2=forsøk 2, O1=nullprøver forsøk 1, O2=nullprøver forsøk 2), antall fisk (N), gjennomsnitt vekt og lengde fordelt på kald/varm temperatur og svømmere/ikke svømmere i begge gruppene. Svømmevillige fisk oppgitt som % under Total % (svømmer)-kolonnen.

I hele gruppen av svømmere, så man 33 fisk som svømte jevnt, mot 9 fisk som drev såkalt ”burstsvømming”. Dette er en type svømming som beskrives som at fisken kan opprettholde den i mindre enn 20 sekunder av gangen. Det karakteristiske ved denne metoden er at fisken raskt akselererer, etterfulgt av en lengre sprintfase. Økologisk sett er dette en viktig fluktmekanisme for å komme seg unna predatorer, eller for å fange et bytte i naturen. Denne måten å svømme på er også viktig i migrering, i sterk strøm, eller for å komme seg raskt gjennom ”flaskehals”(A. Palstra, J Planas, 2013).

Resultatene på svømmevillighet på fiskene i gruppa både med og uten sugekopp (tabell 1) viser at på 7 °C var det i begge forsøkene til sammen 54,32 % som ville svømme, mens på 13 °C var det i begge forsøkene til sammen 45,68 % som ville svømme, altså en noe høyere prosentdel (8,64 %) i kaldere vann. Dette er ikke den helt store forskjellen, men videre testing på svømmevillighet når man deler fisk opp i grupper med og uten sugekopp ved å kjøre chi-kvadrat-test for kategoriske data (figur 10) viste at en signifikant større andel av fisk med immobilisert sugekopp var villige til å svømme i forsøket, men samtidig at ikke alle fisker med immobilisert sugekopp var villige til å svømme. Fisher`s test viste følgende signifikansverdier på 1 hale (med parafilm)  $p=0,0083$  og 2 haler (forskjell mellom parafilm/sugekopp)  $p=0,0113$  og  $R^2$  var på 0,0649. Disse verdiene er ikke overraskende, ettersom immobilisert sugekopp tvinger fisken til å svømme i hastigheter der man antar at den normalt ville brukt sugekoppen til å feste seg. Videre viste chi-kvadrat-test på om de to temperaturene vi brukte (7 og 13 °C) hadde innvirkning på fiskens svømmevillighet (figur 11) at temperatur hadde ingen signifikant innvirkning på om fisken ville svømme eller ikke ( $R^2$  0,0058).



**Figur 10.** Intakt sugekopp mot temperatur (rød: varm, blå: kald) viser at en signifikant større del av fisk med immobilisert sugekopp var villige til å svømme enn fisk med sugekoppen intakt.

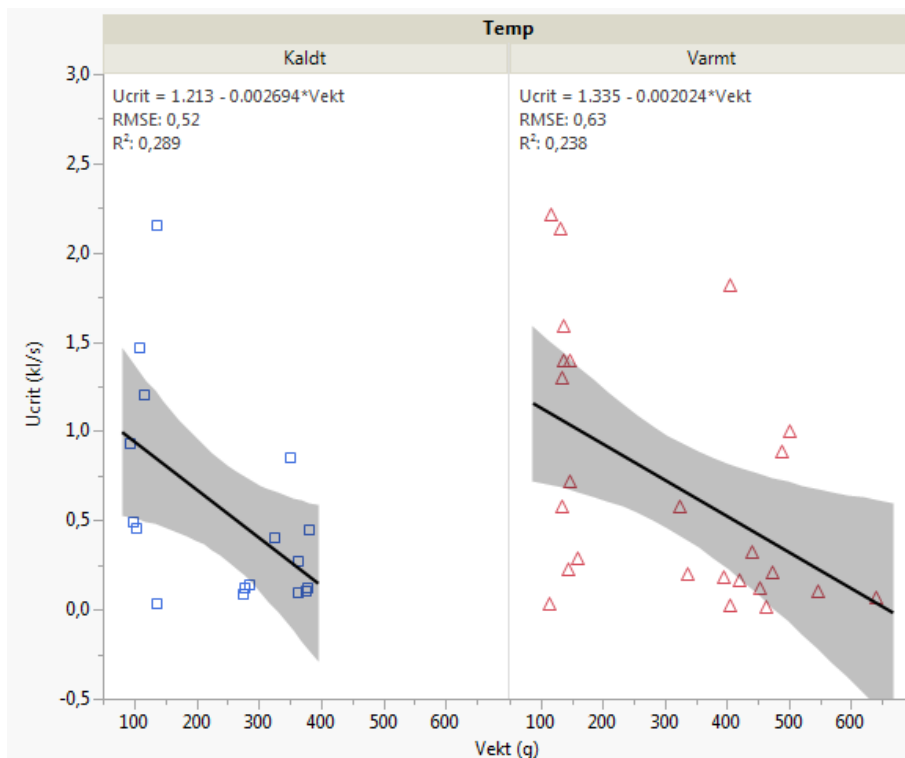


**Figur 11.** Test på svømmevillighet mot temperatur (rød: varm, blå: kald) gav ingen signifikante resultater.

Ved å kjøre Nominal Logistisk Regresjonsanalyse for å teste på farge, og kombinasjonen av farge og temperatur, fikk man signifikant utslag ( $p=0,0192$ ), ( $R^2$  0,1259) og gir en indikasjon på at farge er den andre faktoren som forklarer en del av variasjonen (jo sterkere farge, jo mer sannsynlig er det at fisken svømmer, spesielt på lav temperatur). Men interaksjon mellom farge og temperatur var negativ (-1,0717199).

Interaksjonen mellom vekt og farge i chi-kvadrat-test gav ingen signifikante utslag ( $p=0,238152$ ) med en  $R^2$  på 0,1588.

Av de svømmevillige fiskene så man at vekt gav et signifikant utslag på kritisk svømmehastighet (figur 12): jo høyere vekt, jo lavere  $U_{crit}$  ( $R^2$  0,289 og 0,238). Dette så man ved begge temperaturene (7 og 13 °C), og var som forventet da man ser samme trend hos mange andre fiskearter i  $U_{crit}$ -eksperimenter, blant annet Atlantisk laks og regnbueørret (A. Palstra, J Planas, 2013).

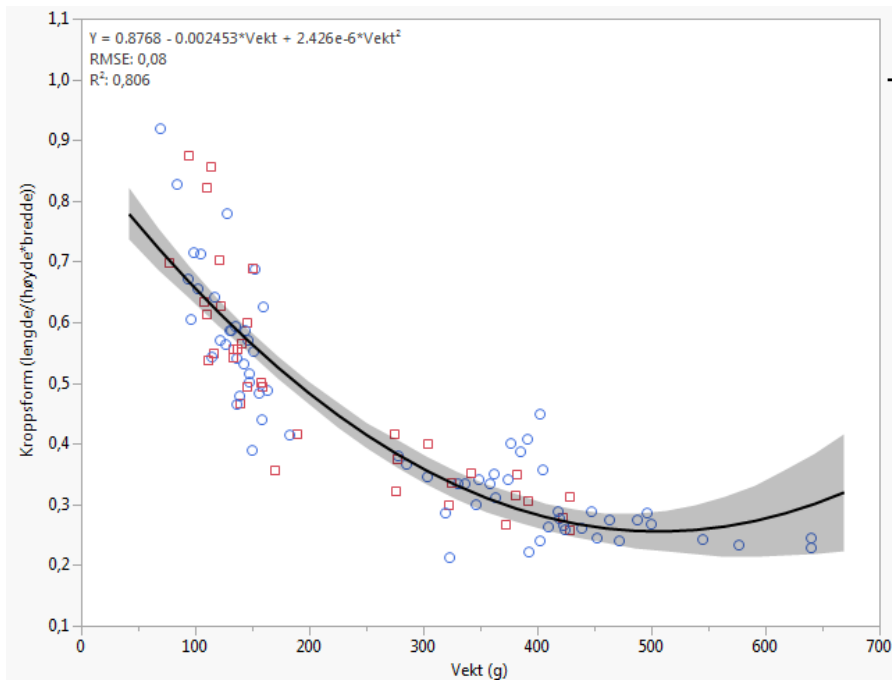


**Figur 12.** Svømmere, hva betyr noe for  $U_{crit}$ . Temperatur er ikke signifikant. Vekt gir signifikant utslag: jo høyere vekt jo lavere  $U_{crit}$  ved begge temperaturer.

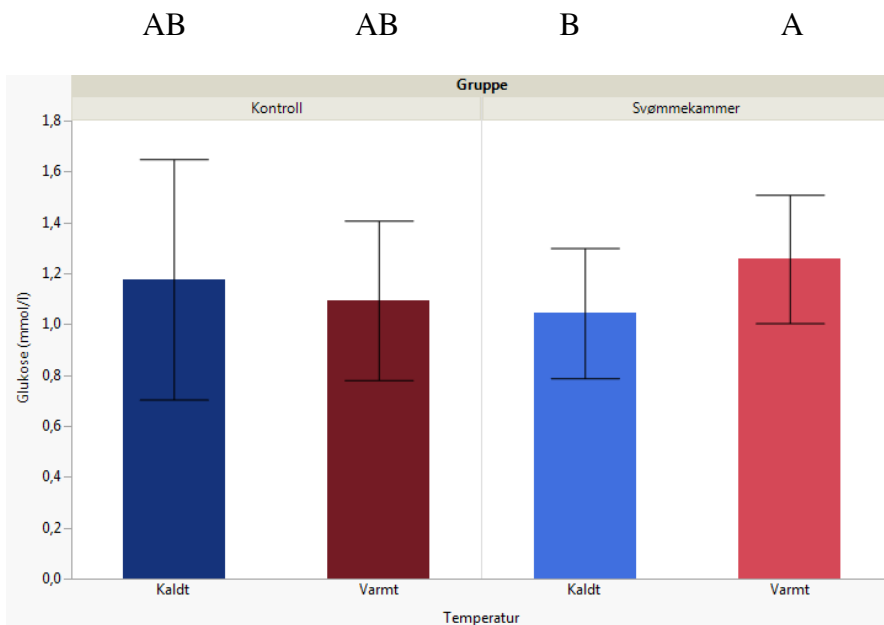
Når man kjørte en modell med vekt, kroppsform og interaksjonen vekt\*kroppsform gav ikke kroppsform noe signifikant utslag ( $R^2$  0,806) (figur 13). Deretter ble kroppsform alene testet mot  $U_{crit}$  på henholdsvis varm og kald temperatur, noe som gav nesten signifikant verdi på lav temperatur ( $p=0,068$ ) og signifikant på høy temperatur ( $p=0,045$ ). Kroppsform er beregnet som lengde/høyde\*bredde. Tallverdien blir altså mindre jo bredere og høyere fisken er i forhold til lengden.

Blodglukose ble målt etter opphold i svømmekammer, og det kan tenkes at både stress og svømmeaktivitet påvirker denne. Test med Tukey Kramer HSD post hoc test gav ingen signifikant forskjell ( $p=0,0222$ ) mellom fisk som har vært svømt og fisk fra kontrollgruppe (figur 14).



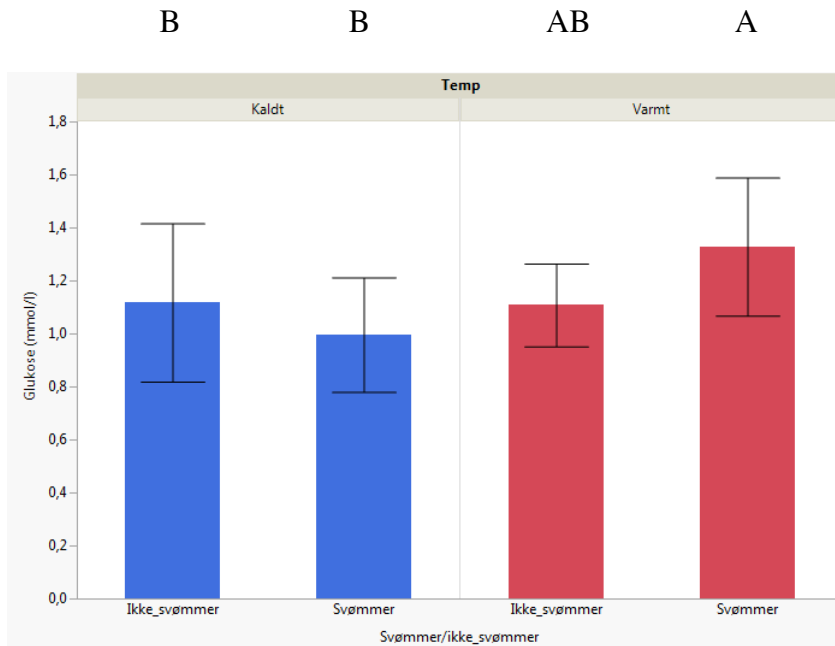


**Figur 13.** Kroppsform mot vekt. Blå sirkler er hunner, røde firkanter er hanner.



**Figur 14.** Søylar som ikkje har en felles bokstav er signifikant forskjellige, og viser at blodglukosen på kontrollgruppe ikkje har noen utpreget forskjell i verdi mot fisk som har vært svømt i svømmekammer. Blå søylar viser fisk på 7 °C og røde søylar viser fisk på 13 °C.

Testing viste signifikant forskjell på glukosenivå kun mellom varm svømmer og de to kalde gruppene (figur 15). Det var også en noe høyere verdi for de som svømmer i varm og de som ikke svømmer, men ikke signifikant forskjell. Det kan indikere at fisk som svømmer under høye temperaturer mobiliserer mer energi.



**Figur 15.** Søyler som ikke har en felles bokstav er signifikant forskjellige. Figuren viser distribusjon av glukosenivåer målt i svømmer/ikke svømmer på 7 °C (blå søyler) og 13 °C (røde søyler).

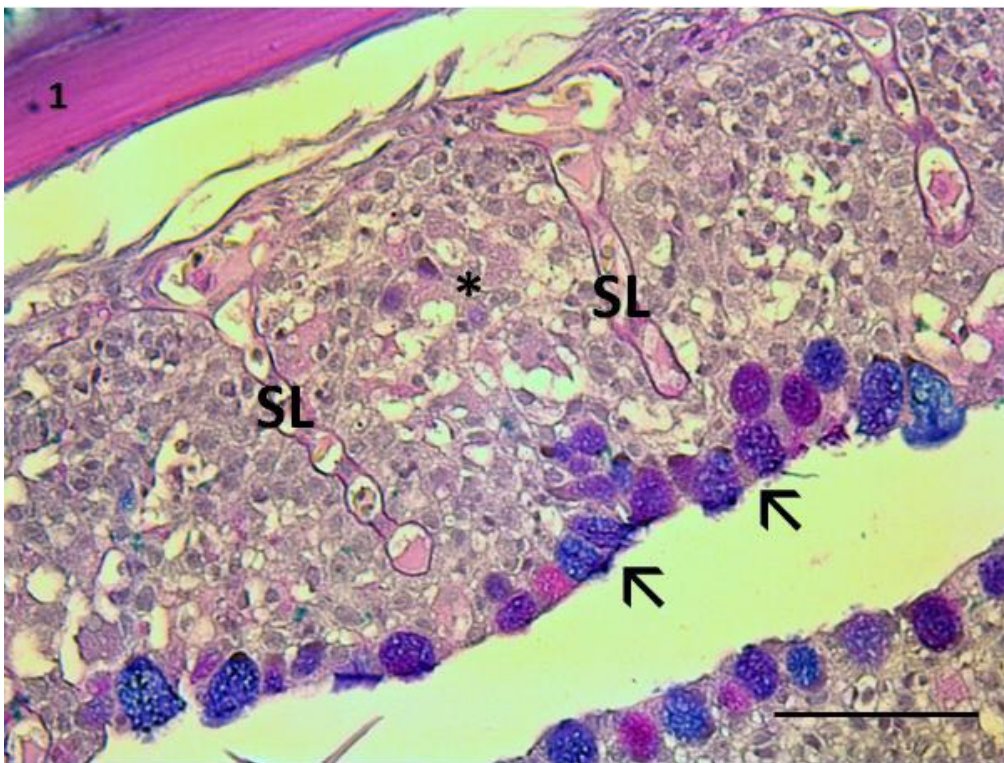
Økte nivåer på blodglukose kan være en fysiologisk indikator på stress hos fisk. Man forventer høyere glukose på høyere temperatur da fisken bruker mer energi ved svømming på høyere temperatur og er muligens også stresset av den raske temperaturøkningen. I forsøket fant man som ventet høyest glukose på høyest  $U_{crit}$ -verdier på svømmere ( $p=0,001$ ).

### 3.3 HISTOLOGI

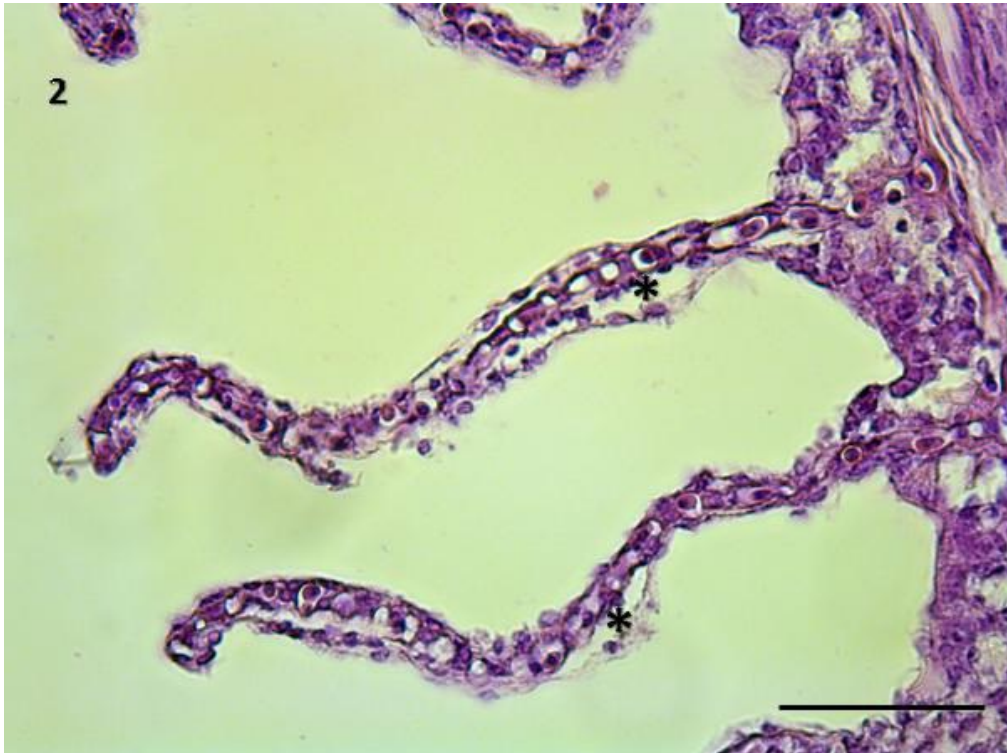
ID	Vekt	Varm/Kald	Gruppe	Hevet epitelium	Opphopning av kapillærer	Hyperplasi	Hypertrofi	Fusjon
64	488	Varm	2	2-3	2-3	3	2	2-3
68	452	Varm	2	2	1	1-2	1-2	1
55	382	Varm	2	2	1	2	1	2
24	145,1	Varm	1	2	1	2	1-2	1
15	144	Varm	1	1	1	1	1	1
16	143,1	Varm	1	2	2-3	2-3	2	1
12	133	Varm	1	2	1-2	2	1-2	1
29	98,5	Kald	1	1	2	1-2	1	1
7	145,5	Kald	1	2	2	2	2	3
6	121	Kald	1	1	1	2	1	1
5	107,5	Kald	1	2	1	2-3	2	1
3	94	Kald	1	1	1	1-2	1	1
1	70	Kald	1	2	1	2	1	1
8	96,5	Kald	1	2	1	2	2	2-3
2	94	Kald	1	2	1	2	1	1
37	372	Kald	2	1-2	2-3	2	1	1
79	285	Kald	2	1	1	2	1	1
78	363	Kald	2	1	1	3	2	3
72	375	Kald	2	2	2	2	2	2
74	324	Kald	2	1-2	1	3	3	1
77	349	Kald	2	2	1	2-3	1	1
38	496	Kald	2	2	1	2	2	1
73	423	Kald	2	2	2	2-3	2	2
75	380	Kald	2	2-3	1	2-3	2	2
33	322	Kald	2	1	3	2-3	1-2	1
46	391	Kald	2	2	2-3	2-3	2-3	2
41	403	Kald	2	1-2	2	2-3	2	1-2
47	428	Kald	2	2	1	2	1	2
50	330	Kald	2	1-2	1	2	1	1

**Tabell 2.** Distribusjon av gjelleskader på utvalgte histologiske snitt.

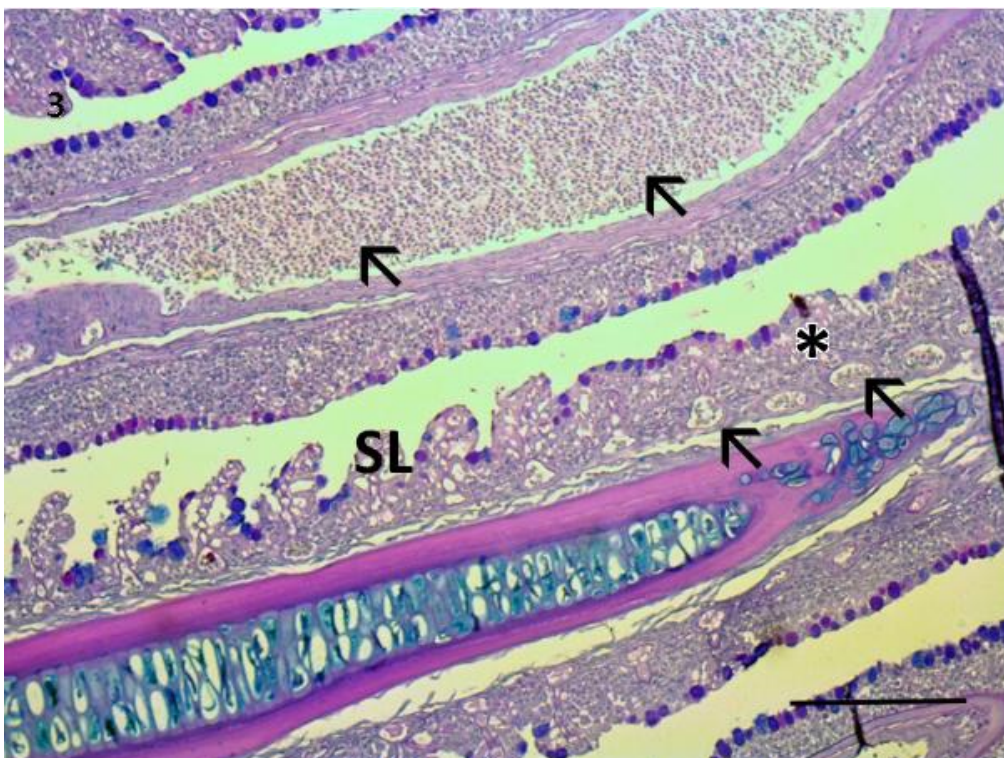
Ved statistiske analyser på på temperatur mot gjelleskader fant man ingen signifikante verdier ved å kjøre Toveis ANOVA test mellom varm og kald gruppe.



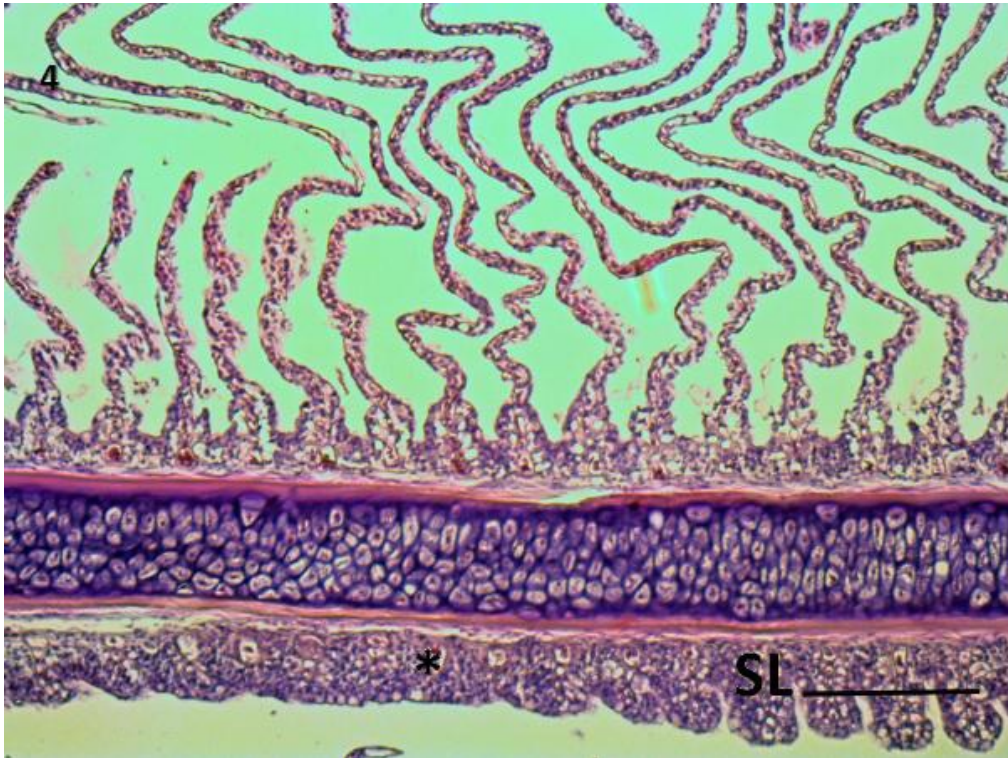
**Figur 18.** Ekstensiv alvorlig fusjon (\*) av sekundærlameller. De to subpopulasjonene av slimceller kan ses på overflaten av det sammenvokste vevet (piler) PAS/Alcian blå farging. Bar= 100 µm.



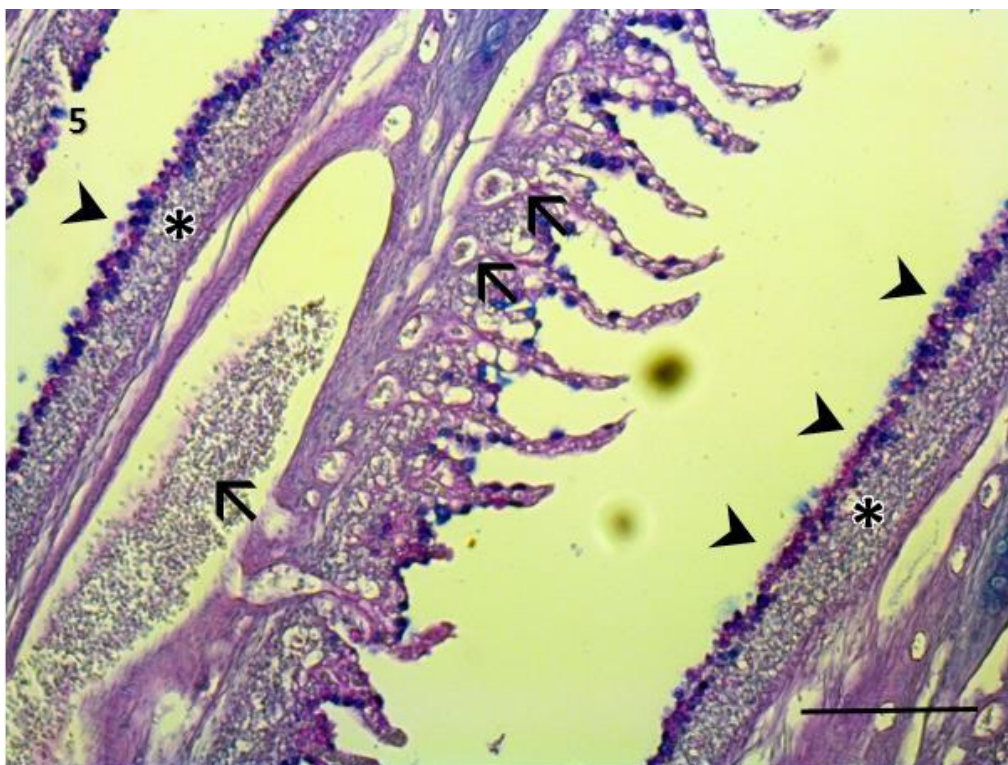
**Figur 19.** Løfting av respiratorisk epitelie (\*). Mild hyperplasi i cellene lokalisert mellom sekundærlamellene. Hematoxylin & eosin farging. Bar= 100 µm.



**Figur 20.** Områder med ekstensiv alvorlig fusjon (\*) av sekundærlameller (SL). Opphopning av blod kan ses i de filamentale blodårene og de lamellære kapillærene (piler). PAS/Alcian blå farging. Bar= 500 µm.



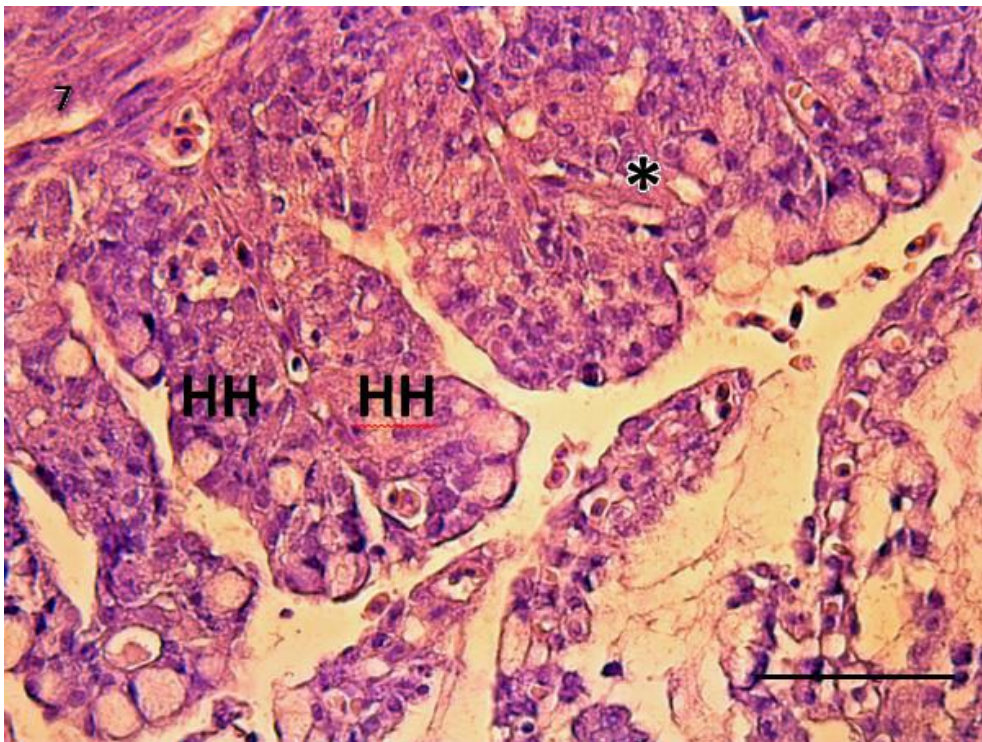
**Figur 21.** Områder med alvorlig forkortning (\*) og fusjon av sekundærlameller (SL). Hematoxylin & eosin farging. Bar= 500  $\mu$ m.



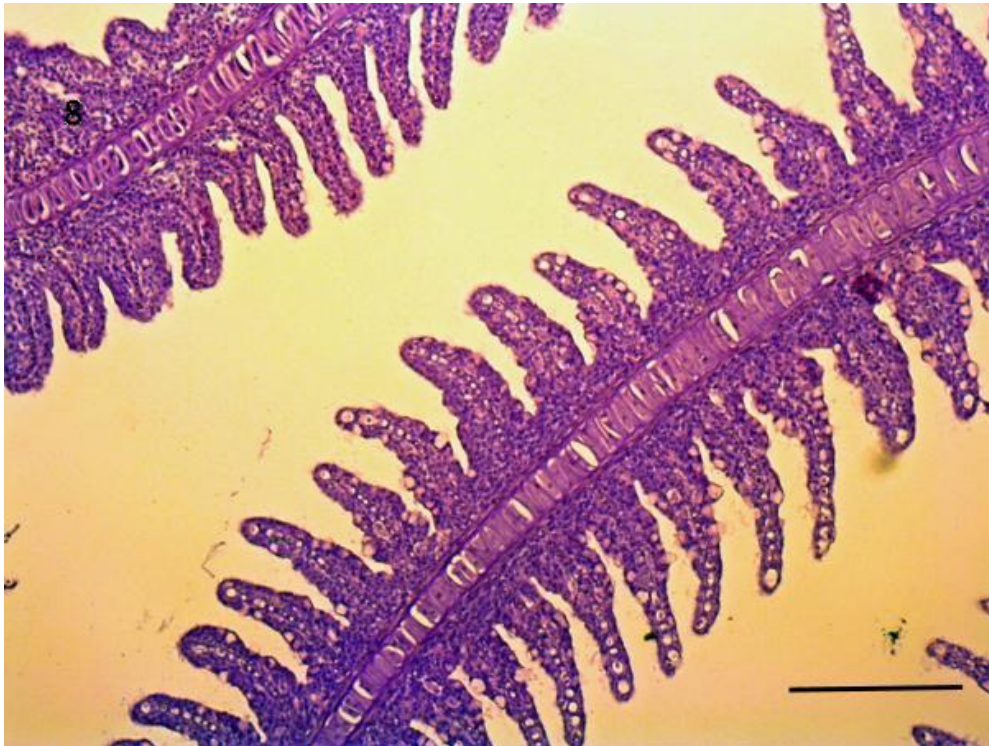
**Figur 22.** Områder med alvorlig utbredt alvorlig fusjon av sekundærlameller (\*). Opphopning av blod kan ses i de filamentale blodårene og de lamellære kapillærene (piler). Økt antall slimceller (begge subpopulasjonene) kan ses på overflaten på det sammenvokste vevet (piler). PAS/Alcian blå farging. Bar= 500  $\mu$ m.



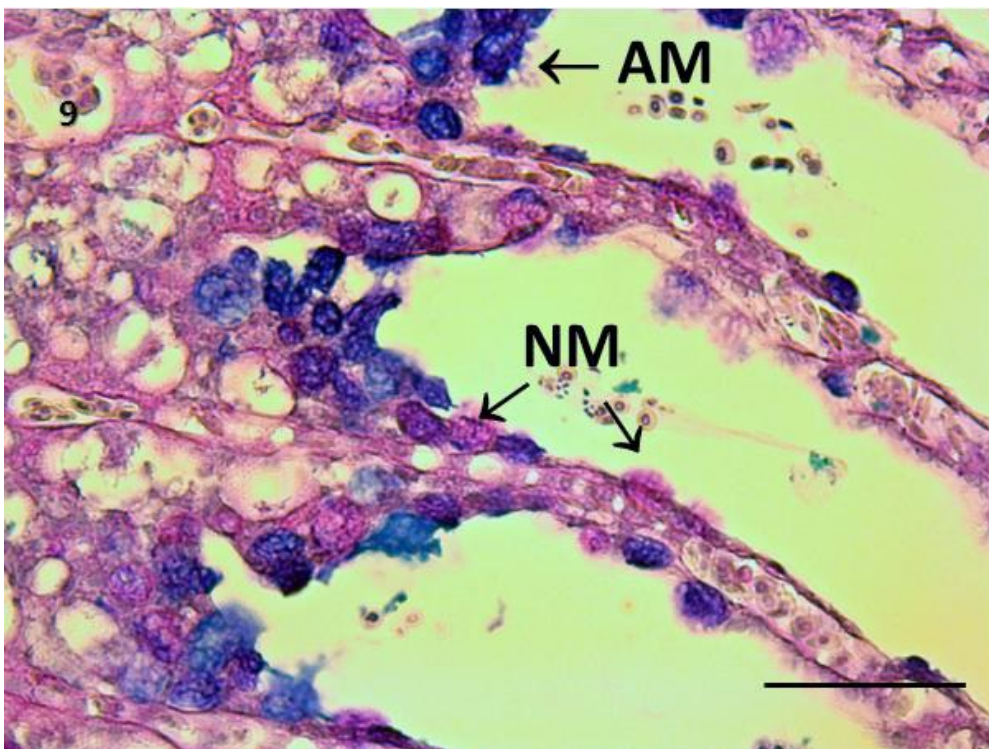
**Figur 23.** Hyperplasi I cellene mellom sekundærlamellene (\*). Utvidede blodkar i sekundærlamellene (pilene). Hematoxylin & eosin farging. Bar= 100 µm.



**Figur 24.** Alvorlig ekstensiv hyperplasi og hypertofi i det respiratoriske epiteliet i sekundærlamellene (HH). Fusjon av sekundærlameller kan også ses (\*). Hematoxylin & eosin farging. Bar= 100 µm.



**Figur 25.** Alvorlig ekstensiv hyperplasi og hypertofi i det respiratoriske epiteliet kan ses i hele sekundærlamellen. Hematoxylin & eosin farging. Bar= 500 µm.



**Figur 26.** To subpopulasjoner av slimceller kan identifiseres: Magenta slimceller som inneholder nøytrale muciner (NM) og mørkeblå slimceller som inneholder syremuciner (AM) PAS/Alcian blå farging. Bar= 100 µm.

#### **4. DISKUSJON**

Resultatene på "burstsvømming" mot jevn svømming sier lite om fiskens svømmekapasitet og svømmevillighet, men er et interessant sidefunn da det bekrefter at rognkjeksen kan mobilisere høy svømmehastighet når den må. Fysiologisk sett drives denne teknikken anaerobt av hvit muskulatur, og maksfarten hos mange arter kan være så høy som 20 kroppslengder per sekund (Beamish 1978). Dette er ikke målt på rognkjeksen enda. I forsøket så man svært ofte at fisken plutselig brøt ut av jevn svømming og endret til "burstsvømming" enten i hele kammeret eller raskt fram til front for så å flyte bakover på strømmen og gjenta dette flere ganger, dette var oftest like før den nådde utmattelse, men noen individer viste slik adferd under hele svømmingen, og disse ble karakterisert som "burstsvømmere". Jevn svømming drives aerobt av rød muskulatur, og det er denne typen svømming som er mest brukt av fisk, fordi denne teknikken er mindre energikrevende og kan brukes over lange perioder, mens hvit muskulatur bare brukes i korte perioder og koster mer energi (A. Palstra, J Planas, 2013). Det kan derfor tenkes at stresset fisk lettere tok til denne adferden, men dette blir spekulasjoner.

Resultatene viste som forventet at det var flest svømmere i gruppen av fisk som ble fratatt muligheten til å feste seg med sugekoppen, da disse i høyere grad ble tvunget til å svømme. Men fortsatt var det høy prosent som ikke svømte. Disse la seg direkte på rista etter bare noen få minutter på laveste hastighet. Dette kan jo tilskrives stress fra å ha fått parafilm på sugekoppen, eller eventuelt stress ved å være i svømmetunellen ettersom såpass høy prosentandel av fisken som hadde intakt sugekopp også viste denne adferden. Man burde kanskje hatt lengre akklimatiseringstid i tunellen før man startet å øke vannhastigheten, da dette i nyere forskning (A. Palstra, J Planas, 2013) er anbefalt å være minst et par timer, men fisken i forsøket fikk kun 30 min. Dette er en mulig feilkilde og det er mulig at resultatene ville blitt annerledes og gitt flere svømmere med høyere  $U_{crit}$  om denne akklimatiseringsperioden hadde vært forlenget slik at fisken fikk mulighet til å gå tilbake til ustresset utgangspunkt med normal  $O_2$ -forbruk, og lavere glukosenivåer i blodet før start. Da hadde fisken som fikk festet på seg parafilm også fått vent seg mer til denne og det kunne hatt positiv effekt ved at den svømte lengre. Det var tydelig å se at fisken fant det forstyrrende med parafilmen på, og den brukte mye energi på å prøve å feste seg i bunnen, noe som sannsynligvis har påvirket svømmekapasiteten hos denne gruppen. Resultatene viste dessuten lavere gjennomsnittlig  $U_{crit}$



hos gruppen med parafilm (0,59), enn hos gruppen med intakt sugekopp (0,74), noe som understøtter dette.

Det faktum at resultatene avslørte en høyere svømmekapasitet hos fisk med sterkere farge, er svært overraskende og absolutt noe å ta med seg til videre forskning. Dessverre var det ikke tid nok til å undersøke dette videre i denne studien, så man kan bare spekulere i hva grunnen til dette kan være. Man kan jo tenke seg at fisk med sterkest blåfarge befinner seg i dypere vann med sterkere strømhastigheter, og kamuflerer seg direkte i vannet med denne fargen, og dermed er naturlig selektert til høyere svømmekapasitet. I motsetning til mer brunaktige fisk som kanskje lever på grunnere områder og kamuflerer seg i tang og tare med denne fargen, men dette blir bare spekulasjoner da det ikke finnes forskning på dette per dags dato.

Størrelsesforskjellene hos individene i forsøket var svært varierende til tross for at alle fiskene kom fra samme generasjons klekking. I første gruppe svømt ble de synlig minste individene i ventekarene plukket ut, mens i andre gruppe ble de synlig største individene plukket ut. Men selv innenfor disse gruppene var variasjonen stor (70 til 640 gram). Denne størrelsesvariasjonen kan muligens forklare noe av den fenotypiske variasjonen i temperaturløstoleranse (Jørgensen et al. 2014a), selv innenfor den relativt like størrelsesvariasjonen i dette forsøket. Kroppsform endrer seg med størrelse hos denne arten, noe som gjør at vannmotstanden blir høyere jo større fisken blir, i motsetning til mange salmonider som beholder sin strømlinjeform gjennom hele livet, og dermed under hele vekstfasen er bedre tilpasset et liv i høye strømhastigheter enn det kan se ut til at rognkjeks er etter hvert som den vokser seg større. Iversen (2016) fant at det var stor variasjon i de fleste av variablene innenfor gruppen hun brukte i forsøket, og antar at hjerterate hos store rognkjeks er lavere enn hos mindre fisk og juvenile. Hun fant også at rognkjeks ser ut til å ha et kraftig hjerte, er det seleksjon på dette vil det kunne være en av artens spesialiseringer i form av at det muliggjør en høyere svømmekapasitet enn ventet når man ser på det kuleformede utseendet, sugekoppen, mangelen på svømmeblære i stedet for hydrodynamisk form som for eksempel salmonider har. Men her igjen trengs det mer forskning.

Akklimatisering er en type fenotypisk endringsevne som fisk bruker når variabler i miljøet, slik som temperatur, forandrer seg (Anttila et al. 2013b). Dette har man sett hos mange fiskearter, der de har endret temperaturløstoleransen sin (Eme & Bennett 2009; Ford & Beiting 2005; Fu et al. 2011) som følge av endret temperatur i vannet. Øvre varmetoleransegrense ser man på som skiftende, og kan endre seg med hvor i livet fisken er og temperaturakklimatisering (Pörtner &

Farrell 2008, Ferreira et al. 2014). Grunnen til at man i forsøket brukte så kort akklimatiseringstid var av praktiske grunner. Det er mulig at lengre akklimatiseringstid ville gitt andre resultater, da fisken ville fått bedre tid til å tilpasse fysiologiske parametere til den relativt raske og høye temperaturøkningen. Men Iversen (2016) viste i sitt forsøk at rognkjeksen akklimatiserer seg fint til de samme to temperaturene som brukt i dette forsøket, selv med kort akklimatiseringstid. De to temperaturene (7 og 13 °C) brukt i forsøket, kan gi oss en pekepinn på forskjellig temperaturtoleranse hos rognkjeks i atlantiske farvann, hvor temperaturene i havet sjelden stiger over 7 °C, og en sydligere distribusjon i høyere temperaturer. Denne temperaturforskjellen kan også beskrive hvordan årstidsvariasjonene i havet påvirker artens prestasjon og fysiologi både i naturen og i merdene. Men samtidig må man tenke på at under gytesesongen har ikke hannen mulighet for å fjerne seg fra eggene han vokter over inne på grunne områder, så det er sannsynlig at de tåler ganske høye temperaturer fra naturens side. Derimot er jo spørsmålet hvor godt de presterer under slike forhold, og hvor lang tid de kan leve slik. Man ser fra tidligere forskning at Atlantisk laks har høy fenotypisk variasjon, og mange av disse fenotypene kan ha potensial for å kunne tilpasse seg godt en høyere temperaturer en tidligere antatt (Anttila et al. 2013b). Iversen (2016), så på temperaturtoleranse hos rognkjeks, og fant indikasjoner på at arten hadde gode muligheter for å fint tilpasse seg høyere temperaturer hvis de fikk muligheten til å akklimatisere seg over tid. Det trengs mer forskning på genetiske komponenter og molekylær data for å fastslå om genetiske og/eller fenotypiske trekk er ansvarlige for denne tilpasningsevnen.

Forsøket viste også som ventet høyere glukoseverdier i blodet på fisken som ble akklimatisert til 13°C enn fisken som ble holdt på 7°C, noe som indikerer at det er mer energikrevende/stressende for fisken å svømme i høyere temperaturer. Fisken som var akklimatisert til 13°C hadde etter svømming en gjennomsnittlig blodglukoseverdi på 1,328 (laveste 1, høyeste 2,1), mens fisken som ble holdt på 7°C hadde en gjennomsnittlig blodglukoseverdi på 1,023 (laveste 0,7, høyeste 1,5). Glukose er den foretrukne energikilden hos de fleste fisk, spesielt til vev som gjeller og hjerne, og signifikant hyperglykemi ser man ofte etter 16-32 minutter etter stress. Økte glukoseverdier i blodet rett etter stress er sannsynligvis grunnet glykogenolyse (prosess hvor glykogen omdannes til glukose), mens kronisk økte glukoseverdier kommer fra glukoneogenese (stoffskeifeprosess hvor glukose blir dannet fra andre stoffer enn karbohydrater) i leveren. Men man må ta til etterretning at blodglukose hos fisk er svært variabel, og den er ikke like velregulert som hos pattedyr. Spesielt hos karnivore fiskearter, som rognkjeks, er det sannsynlig at blodglukose ikke er en

særlig nyttig indikator på metabolsk status (Iversen 2013). Glukosemengden i blodet øker ved stress og hardt fysisk arbeid, slik som i forsøket når fisken svømmer seg til utmattelse. Videre var det høyest blodglukoseverdier hos fisken i forsøket som svømte til høyest  $U_{crit}$  som også var akklimatisert til 13 grader da den er presset ytterligere. Indikerer at økt temperatur gav økt fysisk belastning og/eller stress hos fisken i forsøket.

Resultatene på glukosemålingene på nullprøvene, tatt av ustresset fisk, viste ingen forskjell på temperatur, da gjennomsnitt på blodglukosen lå på 1,09 både på 7 og 13 °C. Dette indikerer at fisken godt klarer å leve ved høye temperaturer, men når den blir tvunget til å arbeide er det virker det å være energikrevende for den å gjøre dette i høyere temperaturer. Disse funnene er også antydnet i annen forskning, der man anslår at optimal temperatur for rognkjeks på 120-1200 gram, slik som fisken brukt i forsøket, er 8,9 grader (Nytrø et al. 2014). Larver og juvenile hos arten har høyere optimale veksttemperaturer, helt opp i 13 grader, men optimal temperatur for vekst synker når kroppstørrelsen øker (Powell et al. 2017).

Under forsøket ble det forsøkt å måle Laktatnivået i blodet på rognkjeks, men dette viste seg å ikke gi utslag på utstyret brukt, da nivåene var for lave. Ingen verdier over målbar grenseverdi, indikerer at fisken ikke viser tegn til anaerob metabolisme. Iversen (2013), gjorde en studie på stress hos Atlantisk laks der han fant laktatverdier på 6,4 – 9,3 mmol/L etter stressing av fisken, mot verdier på >20 mmol/L funnet i andre studier hos salmonider etter tunge fysiske svømmepåkjenninger og utsettelse for perioder ute av vannet (Schreck et al. 1976; Wood et al. 1990). I følge Jørgensen et al. 2016, som gjorde studie på effektene av redusert vannutveksling og oksygenmetning på vekst og som stressindikator på juvenile rognkjeks, skal normale laktatverdier hos denne arten ligge på  $< 10 \text{ ng mL}^{-1}$  hos ustresset fisk, og de fikk disse verdiene på fisken de holdt på 81% og 96 % oksygenmetning i vannet. I studien deres fikk de så høye verdier som over  $20 \text{ ng mL}^{-1}$ , dette ved å utsette rognkjeks for oksygennivåer på 69 % og 55 % oksygenmetning i vannet, og de tolket disse laktatverdiene som en indikator på kronisk stress.

Det er vanskelig å forklare hva skadene på gjellene man fant i forsøket kan komme av, men med tanke på graden av skader man så hos alle fisk i forsøket, er det nærliggende å tro at det har vært en form for forurensning i karene som har ført til disse problemene. Det ble tatt gjelleprøver kun av fisk som ble svømt, men det er tvilsomt at akklimatiseringen til 13 °C, generelt opphold i akklimatiseringstanker eller svømming i tunell skulle ha denne voldsomme effekten på gjellene. Omfanget av skader og mengden sammenvokste sekundærlameller tyder

på at ødeleggelsen har vært påbegynt allerede før forsøket startet. Dette kan være interessant data da det ikke tidligere er gjort undersøkelser på gjellene hos rognkjeksoppdrett, og man vet derfor ikke hvilke negative påvirkninger disse er lett mottakelige for eller hva som er optimalt for arten i forhold til vannkvalitet. Det er jo en art som fødes på vår og sommer i grunt vann, men som raskt migrerer ut til dypere områder, og i denne tiden er det jo ofte algeoppblomstringer i områdene arten lever i, så den har nok en viss toleranse for dette. Vannet som ble brukt i fasilitetene under forsøket ble hentet direkte fra fjorden utenfor, og viste ingen synlige tegn til algeoppblomstring verken visuelt i fjorden eller i karene. Vannet var til enhver tid visuelt helt klart og rent, og det ble filtrert med UV-filter som tar livet av det meste av vanlig forurensning. Det ble ikke rapportert om noen problemer med UV-filtrene under noen av forsøkene så problemene skal ikke ha kommet fra dette. Spørsmålet da er om disse fiskene hadde sykdom av noe slag som kan ha ført til disse skadene, men de viste ingen ytre tegn på dette. Karene fisken ble holdt i ble røktet og holdt rene under hele forsøkets lengde så forurensningen fra avføring og fôr-rester skal ha vært minimal. Tettheten var svært lav i akklimeringsstankene (figur 6), så her skal det ikke ha kunne akkumulert organisk stoff nok til å føre til denne graden av skader. Derimot var tettheten ganske synlig høy i ventetankene, noe som kan ha ført til opphopning av organisk stoff som Nitrogen, fosfor og CO<sub>2</sub>, noe som potensielt kan ha ført til disse gjelleskadene. Tiden i forsøket var for kort i forhold til temperatur akklimering, og utvalgsstørrelsen var for liten til å dra sikre konklusjoner om temperatureffekt, men skadene er trolig er en negativ effekt av tetthet/andre produksjonsfaktorer. O<sub>2</sub> ble under forsøket styrt til 80% i avløp, mens Jørgensen et al. 2017 i ettertid har vist at dette er for lavt, og dette kan potensielt kan ha vært en medvirkende faktor. Skader på gjeller kan vanskeliggjøre opptak av O<sub>2</sub> og slik ha vært en medvirkende faktor til at fisken viste gjennomgående lav maks svømmekapasitet. Men uten å kjøre samme studie med fisk med friske gjeller er dette vanskelig å anslå viktighetsgraden av og det blir bare spekulasjoner.

Konklusjonen basert på dette eksperimentet er at rognkjeks er en relativt dårlig svømmer sammenlignet med atlantisk laks som den holdes i merder sammen med. Temperatur har liten innvirkning på svømmekapasiteten, men det er stor individvariasjon. At fargen hadde innvirkning på svømmekapasitet tyder på at det finnes genetiske variasjoner som muligens kan avles på for å få en rognkjeks som kan yte bedre under mer krevende strømforhold. Laksen må ha en viss strømhastighet for å gi optimal vekst og levevilkår, og dataene som eksperimentet gav er nyttige i forhold til at man har per dags dato hatt lite fokus på strømhastigheter på

lokalitetene, men at dette i framtiden kan være verdt å se nærmere på for å optimalisere bruken av rognkjeks som renseskisk. Resultatene viste også at arten vokser mer i bredde og høyde enn i lengde, noe man kan anta gjør det fysisk tyngre for den å svømme i sterkere strøm jo større den vokser seg. Dette styrker observasjoner gjort i merder der arten ved en gitt størrelse slutter å beite lus på laksen og går over til å spise laksepelletts. Det er med disse resultatene da nærliggende å tro at dette kan skyldes at det blir for metabolsk kostbart for den å svømme etter laksen og da koster den mindre energi å spise laksepelletts i motsetning til lakselus. Gjelleskadene som ble avslørt i forsøket er også interessante, da de kan tyde på at rognkjeks trenger bedre vannkvalitet og/eller lavere trengsel i karene enn hittil antatt. Lars Jørgen Ulvan ved Nordland Renseskisk har kommentert at det er svært vanlig å se skader på gjeller hos rognkjeks i oppdrett. Men det trengs mer forskning på feltet for å komme til en konklusjon på dette.

---

## **FINANSIERING**

Masteroppgaven ble finansiert av det norske CycLus-prosjektet (“Optimalisert bruk av rognkjeks i bekjempelse av lakselus i lakseoppdrett – biologi, fiskevelferd og effekt som lusespiser i stor skala”), i samarbeid med Nord Universitet (prosjektnummer 73565).

## REFERANSER

Amin A. B., L. Mortensen, T. Poppe; Histology Atlas Normal structure of Salmonids, A colour atlas (1992); ISBN: 82-992406-1-1

Andriashev, A. P. 1954. "Fishes of the Arctic Seas of the USSR". Russian Academy of Science Press. 566 pp.

Anon. (2009). Strategy for an environmentally sustainable Norwegian aquaculture industry. Oslo, Norway: Ministry of Fisheries and Coastal Affairs. 34 pp.

Anttila, K., Casselman, M. T., Schulte, P. M. & Farrell, A. P. (2013a). Optimum temperature in juvenile salmonids: connecting subcellular indicators to tissue function and whole organism thermal optimum. *Physiological and Biochemical Zoology: Ecological and Evolutionary Approaches*, 86 (2): 245-256.

Anttila, K., Dhillon, R. S., Boulding, E. G., Farrell, A. P., Glebe, B. D., Elliott, J. A. K., Wolters, W. R. & Schulte, P. M. (2013b). Variation in temperature tolerance among families of Atlantic salmon (*Salmo salar*) is associated with hypoxia tolerance, ventricle size and myoglobin level. *Journal of Experimental Biology*, 216 (7): 1183- 1190.

Asche, F. & Bjørndal, T. (2011). "The economics of salmon aquaculture". In vol. 10, pp. 7-82: John Wiley & Sons.

Asche, F., Roll, K. H., Sandvold, H. N., Sørvig, A. & Zhang, D. (2013). Salmon aquaculture: larger companies and increased production. *Aquaculture Economics & Management*, 17 (3): 322-339.

Bertelsen, B. 1994. "Bestandsutvikling og bestandsstruktur hos rognkjeks og rognkall (*Cyclopterus lumpus* L.) i Sifjorden i Troms, og maskeseleksjon og fangsteffektivitet ved garn- og rusefiske etter arten". Fiskerikandidatoppgave. The Norwegian College of Fishery Science, University of Tromsø, Tromsø. 89 pp.

Blacker, R.W. (1983) "Pelagic records of the lumpsucker, *Cyclopterus lumpus* L". *J. Fish Biol* 23:405-417.

Bonga, S. E. W. (1997). "The stress response in fish." *Physiological Reviews* 77(3): 591-625.

Bornø G, Alarcón M, Linaker ML, Colquhoun D, Nilsen H, Gu J, Gjerset B, Hansen H, Thoen E, Gulla S, Jensen BB Akutt dødelighet hos rognkjeks (*Cyclopterus lumpus*) i 2015 Veterinærinstituttets rapportserie – 2 - 2016 Oslo: Veterinærinstituttet; 2016

Daborn, G.R & Gregory R.S. (1983) "Occurrence, distribution, and feeding habits of juvenile lumpfish, *Cyclopterus lumpus* L. in the Bay of Fundy". *Can. J. Zool.*,61:797-801.

Davenport, J. (1985). Synopsis of biological data on the lumpsucker, *Cyclopterus lumpus* (Linnaeus, 1758). *FAO Fisheries Synopsis* (147): 31.

Davenport, J. & Thorsteinsson, V. (1989). Observations on the colours of lumpsuckers, *Cyclopterus lumpus* L. *Journal of Fish Biology*, 35 (6): 829-838.

Davenport, J., Kjørsvik, E.: Buoyancy in the Lump sucker *Cyclopterus lumpus*. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* react-text: 53 66(01):159 - 174 /react-text react-text: 56 · /react-text react-text: 57 February 1986

Diler Dilek, Ciner Kenan: A Histochemical Study of Glycoconjugates in the Gills of the Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L. 1758). Süleyman Demirel University, Faculty of Science and Art, Department of Biology 32260 Isparta, Turkey 2009

Drinkwater, K. F., Beaugrand, G., Kaeriyama, M., Kim, S., Ottersen, G., Perry, R. I., Pörtner, H.-O., Polovina, J. J. & Takasuka, A. (2010). On the processes linking climate to ecosystem changes. *Journal of Marine Systems*, 79 (3–4): 374-388.

Durif, C. (2014). Rognkjeks/-kall (In Norwegian). In Bakkeiteig, I. E., Gjøsæter, H., Hauge, M., Sunnset, B. H. & Toft, K. Ø. (eds). *Havforskningsrapporten 2014. Fisken og havet, særnr. 1-2014*: Institute of Marine Research. 180 pp.

Einarsdottir, I. E., K. J. Nilssen and M. Iversen (2000). "Effects of rearing stress on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) antibody response to a non-pathogenic antigen." *Aquaculture Research* 31(12): 923-930.

Elena Eriksen, Caroline M. F. Durif, & Dmitry Prozorkevich (2014) "Lumpfish (*Cyclopterus lumpus*) in the Barents Sea: development of biomass and abundance indices, and spatial distribution". *ICES Journal of Marine Science* (2014), 71(9), 2398–2402. doi:10.1093/icesjms/fsu059

Ellis, T., Turnbull, J. F., Knowles, T. G., Lines, J. A. & Auchterlonie, N. A. (2016). Trends during development of Scottish salmon farming: an example of sustainable intensification? *Aquaculture*, 458: 82-99.

Eme, J. & Bennett, W. A. (2009). Critical thermal tolerance polygons of tropical marine fishes from Sulawesi, Indonesia. *Journal of Thermal Biology*, 34 (5): 220-225.

Ferreira, E. O., Anttila, K. & Farrell, A. P. (2014). Thermal optima and tolerance in the eurythermic goldfish (*Carassius auratus*): relationships between whole-animal aerobic capacity and maximum heart rate. *Physiological and Biochemical Zoology: Ecological and Evolutionary Approaches*, 87: 599-611.

FishBase. (2016). *Cyclopterus lumpus* Linnaeus, 1758. FishBase, tilgjengelig under: <http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.php?ID=62&AT=lumpfish>

Ford, T. & Beitinger, T. L. (2005). Temperature tolerance in the goldfish, *Carassius auratus*. *Journal of Thermal Biology*, 30 (2): 147-152.

Fu, S.-J., Brauner, C. J., Cao, Z.-D., Richards, J. G., Peng, J.-L., Dhillon, R. S. & Wang, Y.-X. (2011). The effect of acclimation to hypoxia and sustained exercise on subsequent hypoxia tolerance and swimming performance in goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Experimental Biology*, 214 (12): 2080-2088.

Gamperl, A. K. & Farrell, A. P. (2004). Cardiac plasticity in fishes: environmental influences and intraspecific differences. *Journal of Experimental Biology*, 207 (15): 2539-2550.

Groner, M.L., Cox, R., Gettinby, G., Revie, C.W., 2012. "Use of agent-based modelling to predict benefits of cleaner fish in controlling sea lice, *Lepeophtheirus salmonis*, infestations on farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L". *J. Fish Dis.* 36, 195–208.

Ignashev, T. M., and Rusyaev, S. M. 1999. "Preliminary data of the lump- sucker (*Cyclopterus lumpus*) in the Barents Sea. Conference for Young Scientists—275 years of Russian Academy of Science", pp. 28–29. Appatity, RAN, Russian Federation.

Imsland, A.K., Reynolds, P., Eliassen, G., Hangstad, T.A., Nytrø, A.V., Foss, A., Vikingstad, E., Elvegård, T.A., 2014b. "Notes on behaviour of lumpfish in sea pens with and without Atlantic salmon". *J. Ethol.* 32, 117–122.

Imsland, A.K., Reynolds, P., Eliassen, G., Hangstad, T.A., Nytrø, A.V., Foss, A., Vikingstad, E., Elvegård, T.A., 2014c. "Assessment of growth and sea lice infection levels in Atlantic salmon stocked in small-scale cages with lumpfish". *Aquaculture* 433, 137–142.

Imsland Albert K., Reynolds Patrick, Eliassen Gerhard, Hangstad Thor Arne, Vigdisdatter Ane Nytrø Atle Foss, Vikingstad Erik, Elvegård Tor Anders (2015) "Feeding preferences of lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.) maintained in open net-pens with Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)" *Aquaculture* 436 (2015) 47–51

Iversen, M. and R. A. Eliassen (2006). Stressnivåene i to kommersielle settefiskanlegg gjennom en produksjonssesong. Effekten av håndtering og transport på laksesmolt (*Salmo salar* L.), Høgskolen i Bodø: 29.

Iversen, M. Stress and its impact on animal welfare during commercial production of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) Dissertation for the degree of Philosophiae Doctor (PhD) PhD in Aquaculture no. 9 (2013) Faculty of Bioscience and Aquaculture

Iversen, N.S. BI309F. Master thesis in Marine Ecology: Thermal tolerance of the lumpsucker (*Cyclopterus lumpus* L.): association between cardiac physiology and upper thermal limits. Faculty of Biosciences and Aquaculture Spring 2016

Iwama, G. K., A. D. Pickering, J. P. Sumpter and C. B. Schreck, Eds. (1997). Fish Stress and Health in Aquaculture. Seminar Series 62. Cambridge, Cambridge University Press.

Johnson, E. O., T. C. Kamilaris, G. P. Chrousos and P. W. Gold (1992). "Mechanisms of Stress - a Dynamic Overview of Hormonal and Behavioral Homeostasis." Neuroscience and Biobehavioral Reviews 16(2): 115-130.

Jørgensen Even H, Haatuft Ada, Puvanendran Velmurugu, Mortensen Atle: Effects of reduced water exchange rate and oxygen saturation on growth and stress indicators of juvenile lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.) in aquaculture. *Aquaculture* 474 (2017) 26–33

Karlsen, Ø., Kvamme, B. O. & Nilsen, R. (2016). Lakselus - en begrensning for oppdrettsnæringen (In Norwegian). In Bakketeig, I. E., Hauge, M., Kvamme, C., Sunnset, B. H. & Toft, K. Ø. (eds). *Havforskningsrapporten 2016. Fisken og havet, særnr. 1-2016*. Institute of Marine Research. 11-14 pp.

Lees, F., Baillie, M., Gettinby, G., Revie, C., 2009. "Efficacy of emamectin benzoate sea lice treatments". *Fish Farmer* 32, 2



McEwan GF, Groner ML, Burnett DL, Fast MD, Revie CW. 2016 Managing aquatic parasites for reduced drug resistance: lessons from the land. *J. R. Soc. Interface* 13: 20160830. <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2016.0830>

Morgan, M. J., C. E. Wilson and L. W. Crim (1999). "The effect of stress on reproduction in Atlantic cod." *Journal of Fish Biology* 54(3): 477-488.

Myrick, C. A. (2011). Physiology of fish in culture environment. In Farrell, A. P. (ed.) vol. 3 *Encyclopedia of Fish Physiology - From Genome to Environment*, pp. 2084-2089: Elsevier Inc.

NOAA. (2016). *Yearly sea surface temperatures*. National Oceanic and Atmospheric Administration. Nettside: <http://www.nvvl.noaa.gov/view/globaldata.html#SURF>

Nytrø, A.V., Vikingstad, E., Foss, A., Hangstad, T.-A., Reynolds, P., Eliassen, G., Elvegard, T.A., Falk-Petersen, I.-B., Imsland, A.K. (2014). The effect of temperature and fish size on growth of juvenile lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.). *Aquaculture* 434(20): 296–302.

O.T. Albert, E. Torstensen, B. Bertelsen, S.T. Jonsson, I.H. Pettersen, J.C. (2002) Holst "Age-reading of lumpsucker (*Cyclopterus lumpus*) otoliths: dissection, interpretation and comparison with length frequencies".

Palstra A.R and Planas J.V (eds.); *Swimming Physiology of Fish*, DOI: 10.1007/978-3-642-31049-2\_7 (2013)

Powell A Jim W. Treasurer, Craig L. Pooley, Alex J. Keay, Richard Lloyd, Albert K. Imsland and Carlos Garcia de Leaniz Use of lumpfish for sea-lice control in salmon farming: challenges and opportunities. *Reviews in Aquaculture* (2017) 0, 1–20 doi: 10.1111/raq.12194

Pörtner, H.-O. & Farrell, A. P. (2008). Physiology and climate change. *Science*, 322 (5902): 690-692.

Rusyaev, C. M. 2000. Norwegian and Russian experience of the lumpsucker fishery. *Fishery Journal*, Murmansk, pp. 24–28. (In Russian).

Perry, A. L., Low, P. J., Ellis, J. R. & Reynolds, J. D. (2005). Climate change and distribution shifts in marine fishes. *Science*, 308 (5730): 1912-1915

Pickering, A. D. (1993). "Growth and Stress in Fish Production." *Aquaculture* 111(1-4): 51-63.

Susan O. Mitchell • Emily J. Baxter • Celia Holland • Hamish D. Rodger, Development of a novel histopathological gill scoring protocol for assessment of gill health during a longitudinal study in marine-farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) *Aquacult Int* (2012) 20:813–825 DOI 10.1007/s10499-012-9504-x

Torstensen, E. 1988. Rognkjeks, en kommersiell ressurs på Skagerrakkysten? *Fisken og Havet*, 15: 6 pp.

Torrissen, O., Jones, S., Asche, F., Guttormsen, A., Skilbrei, O.T., Nilsen, F., Horsberg, T.E., Jackson, D. (2013). Salmon lice – impact on wild salmonids and salmon aquaculture. *Journal of Fish Diseases* 36: 171–194.

Wegner, Nicholas, C: Gill Respiratory Morphometrics, researchgate: NC Wegner, Scripps Institution of Oceanography, La Jolla, CA, USA, DOI: 10.1016/B978-0-12-374553-8.00166-0, 2011

Winther, U., Richardsen, R., Brandvik, K. R., Liabø, L., Viken, A., Bull-Berg, H. & Vik, L. (2015). Forutsigbar og bærekraftig vekst i havbruksnæringen. Trondheim: SINTEF. 39 pp.

[http://www.akvagroup.com/Downloads/Merd%20katalog%203\\_7.pdf](http://www.akvagroup.com/Downloads/Merd%20katalog%203_7.pdf)

<http://aquaticpath.phhp.ufl.edu/fhm/resp.html#anchor316766>

<https://brage.bibsys.no/xmlui/bitstream/id/373805/Belova.pdf>

[https://en.wikipedia.org/wiki/High-performance\\_liquid\\_chromatography](https://en.wikipedia.org/wiki/High-performance_liquid_chromatography)

<https://en.wikipedia.org/wiki/Spectrophotometry>

[http://marinhelse.no/wp-content/uploads/2016/02/5.-Lein\\_I-Nofima-Status-og-utfordringer-rognkjeks-17.02.16.pdf](http://marinhelse.no/wp-content/uploads/2016/02/5.-Lein_I-Nofima-Status-og-utfordringer-rognkjeks-17.02.16.pdf)

<http://sciencefairwater.com/PHYSICAL-WATER-QUALITY-PARAMETERS/WATER-TEMPERATURE/WATER-TEMPERATURE-EFFECTS-ON-FISH-AND-AQUATIC-LIFE/>

[https://www.mattilsynet.no/fisk\\_og\\_akvakultur/akvakultur/akvakulturanlegg/retningslinje\\_ved\\_saksbehandling\\_av\\_etableringsoknader.16319/binary/Retningslinje%20ved%20saksbehandling%20av%20etableringsoknader](https://www.mattilsynet.no/fisk_og_akvakultur/akvakultur/akvakulturanlegg/retningslinje_ved_saksbehandling_av_etableringsoknader.16319/binary/Retningslinje%20ved%20saksbehandling%20av%20etableringsoknader)

[https://www.regjeringen.no/globalassets/upload/fkd/vedlegg/brosjyrer/2009/brosjyre\\_strategi\\_baerekraftig\\_havbruk.pdf](https://www.regjeringen.no/globalassets/upload/fkd/vedlegg/brosjyrer/2009/brosjyre_strategi_baerekraftig_havbruk.pdf)

<http://sjomatnorge.no/mindre-legemidler-mot-lakselus/>

<https://www.ssb.no/jord-skog-jakt-og-fiskeri/artikler-og-publikasjoner/fra-attatnaering-til-milliardindustri>

<https://www.ssb.no/jord-skog-jakt-og-fiskeri/statistikker/fiskeoppdrett/aar-forelopige>

[http://www.statkraft.no/GLOBALASSETS/OLD-CONTAINS-THE-OLD-FOLDER-STRUCTURE/DOCUMENTS/NO/13---LAKS-OG-TEMPERATUR--EN-LITTERATURGJENNOMGANG\\_TCM10-4208.PDF](http://www.statkraft.no/GLOBALASSETS/OLD-CONTAINS-THE-OLD-FOLDER-STRUCTURE/DOCUMENTS/NO/13---LAKS-OG-TEMPERATUR--EN-LITTERATURGJENNOMGANG_TCM10-4208.PDF)

<http://www.vetinst.no/sykdom-og-agens/lakselus>

<http://www.vkm.no/dav/c22a3c08fe.pdf> side 30.

<http://www.vkm.no/dav/c22a3c08fe.pdf> side 31

<http://www.vkm.no/dav/c22a3c08fe.pdf> side 32

