

MASTEROPPGAVE

Emnekode: BIO5002

Navn / kandidatnr.: Bjørn Grønnevik / 8

Erstatning av fiskeolja med rapsolja i fôr til rognkjeks (*Cyclopterus lumpus L*) og korleis dette påverkar vekst, kjemisk samansetning og tarmhelsa til fisken.

Dato: 15.05.2019

Totalt antall sider: 68

Forord

Denne oppgåva er avsluttande del av master oppgåva i biologi og akvakultur (BIO5002) , oppgåva teller for 60 av totalt 120 studiepoeng. Som skal takast over 2 år ved masterstudiet på Nord universitetet. Forsøket vart gjennomført under akvakulturgruppa på fakultetet for biovitenskap og akvakultur.

Eg vil benytta anledninga til å takka alle som har bidrege i arbeidet. Spesielt retta eg ein stor takk til veileidar Ørjan Hagen for fantastisk god hjelp. Eg vil og retta ein takk til coveileदारane Mette Sørensen og Ioannis Vatsos. Takk til Dahlia Dahle og Nimalan Nadasabesan på labben i Mørkvedbukta og ein stor takk til Anjana Mahesh Palihawadana på labben Universitetet, vil og retta ein stor takk til PhD student Florence Chandima Perera Willora Arachchilage for god hjelp og veileding undervegs.

Til slutt vil eg også retta ein takk til Innovasjon Norge for finansiering av studiet «Fôr og ernæring til rognkjeks».

Summary

Norway is the world's largest producer of Atlantic salmon (*Salmo Salar*), a high-end food product. The industry needs good environmentally friendly solutions to overcome some of its challenges, especially the salmon lice. Farmed lumpfish (*Cyclopterus Lumpus*) is one of these new suggested solutions. The usage of wild caught cleaner wrasse has been going on since the 1980s. The knowledge about lumpfish nutrition is limited, and even though several feed companies make special lumpfish feed, there is very little knowledge about the nutritional requirements. The purpose of this study was therefore to investigate the performance of the lumpfish when fish oil was replaced with rapeseed oil, at 25%, 50% and 100% inclusion levels. 215 lumpfish were stocked in each tank of 12 tanks. The tanks were acclimatized for two weeks before project start. The tanks were randomly distributed for the experiment with each of the 4 diet groups having triplicate tanks.

Biometric data (weight, standard length, width, height, liver weight and viscera weight) was measured at week 0, 3 and week 6. There was also taken out samples for proximate composition, fatty acid analysis and histological analysis at the different sampling points.

The start weight of the fish was about 7.5 grams post acclimatization and there was no mortality. The end weight after 6 weeks was on average 39 grams for the groups up to 50% oil substitution, while the lumpfish that got 100% rapeseed oil had an average weight of 34.5 grams ($P < 0.05$). Based on the analysis done in this thesis the fish oil substitution up to 50% substitution gives good growth performance and does not change the proximate composition. The histological analysis of intestine villi length and thickness in addition to the amount of mucus cells in the pylorus caeca, proximal and mid intestine showed no significant change with inclusion level. Rapeseed oil in all inclusion levels reduces the amount of n-3 PUFA in the lumpfish tissue, and overall changes the fatty acid composition. The n-3/n-6 ratio was an 8-fold lower for the fish that got 100% rapeseed oil in week 6 compared to the control group.

Key words: *Cyclopterus lumpus*, Lumpfish, sea lice, growth, oil replacement, proximate composition, fatty acid composition.

Oppsummering

Norge er den største produsenten av atlantehavslaks (*Salmo Salar*), som er ei god kjelde til omega 3. Og det vert i store delar av verden rekna som eksklusiv mat. For at akvakulturindustrien skal kunne være bærekraftig treng ein gode løysingar mot luseproblematikken. Oppdrettsrognekjeks (*Cyclopterus Lumpus*) er ei av desse gode løysingane. Bruken av villfanga leppefisk har vore utbredt sidan 1980talet. Kunnskapen om rognkjeksernæring er begrensa, sjølv om fleire førselskap lagar fôr produsert for rognkjeks, er det gjort begrensa forskning på området. Målet med oppgåva er å undersøke prestasjonen til rognkjeksen, når fiskeolja blir erstatta med henholdsvis 25%, 50% og 100% inklusjonsnivå i mens kontrollgruppa fekk 100% fiskeolja. I forsøket vart det nytta 215 rognkjeks i 12 ulike tankar. Totalt fire diettar der kvar diett hadde triplikat gruppe.

Biometriske data (vekt, standard lengde, breidde, høgde, lever vekt og visera vekt) vart målt i veke 0, 3 og veke 6. Det vart også tatt ut prøvar for proksimal samansetnings analyse. Feittsyre analyse og histologiske analysar vart også gjennomført ved dei ulike prøvetakingspunkta.

Startvekta på fisken var rundt 7.5gram etter akklimatisering, og det var ingen dødelegheit. Ved slutten av forsøket ved veke 6 var vekta stige til gjennomsnittlig 39gram for gruppene opp til 50% olje substitusjon, mens rognkjeksen som fekk 100% rapsolja hadde ei snittvekt på 34.5gram ($P < 0.05$). Basert på analysane gjort i forsøket gjer 50% erstatning av fiskeolja god vekst og det vil ikkje endra den proksimale samansetninga. Histologiske undersøkinga av tarmfoldlengda og tjukkelse av lamina propria viste ingen signifikante endringar, det var heller ingen signifikante endringar i mengda slimceller. Feittsyresamansetningen vart påverka med alle inklusjonsnivå av rapsolja. n-3/n-6 forholdet vart sterkt påverka og var 8 gangar lågare for rognkjeksen som hadde fått 100% rapsolja.

Nøkkelord: *Cyclopterus lumpus*, rognkjeks, lakselus, rapsolja, oljesubstitusjon, proksimal samansetning, feittsyresamansetning

Figurliste

Figur 1: Fordeling av verdens akvakulturproduksjon i 2016	3
Figur 2: Endring i førsamansetning til laks frå 1990 til 2013	5
Figur 3: Utvikling i bruk av rensefisk i perioden 1998-2017	9
Figur 4: Gjennomsnittleg månadsvis lusepåslag i perioden 2013-2017	11
Figur 5: Kostnadsutvikling for rensefisk i perioden 1998-2016	12
Figur 6: Endring i mengde n-3 PUFA i laksefilet frå 2006 til 2015.	14
Figur 7: Tilfeldig karplassing	18
Figur 8: Målingsområde for måling av Lamina propria	24
Figur 9: Måling av lengda tarmfold	25
Figur 10: Illustrasjon av målingsområde for slimcelle undersøking	26
Figur 11 : Heilfisk vekt	32
Figur 12 : Standardlengde i cm	33
Figur 13 : Breidde i cm	34
Figur 14 : Høgde i cm	35
Figur 15 : K-faktor	36
Figur 16 : SGR i % tilvekst per dag	37
Figur 17 : Visera somatisk indeks	38
Figur 18 : hepatosomatisk indeks	39

Tabelliste

Tabell 1: Medikamentelle og ikkje medikamentelle behandlingar frå (2012 – 2018)	6
Tabell 2: Forsøksdiett og fôr ingrediensar	20
Tabell 3: Samansetning, aminosyreprofil, vitamina, mineralar og feittsyrer	21
Tabell 4: Viser tjukkelsen av lamina propria og lengde tarmfold	40
Tabell 5: Slimceller i tarm for kontrollgruppa og 100% rapsoljegruppa	41
Tabell 6: Proksimal samansetning av heilfisk rognkjeks	43
Tabell 7: Feittsyresamansetning i heilfisk	46
Tabell 8: Biometriske verdiar for fiskegruppe	i

Forkortingsliste

ANOVA	Varianse analyse
BL	Kroppslende fisk
BW	Kroppsvekt
cm	Centimeter
DHA	Docosahexaenoic syre (omega 3 feitsyre)
EAA	Esensielle aminosyrer
EPA	Eicosapentaenoic syre (omega 3 feittsyre)
FAO	Food and Agriculture organization
g	Gram
H	Kroppshøgde
HSI	Hepatosomatiske indeks
K	Kondisjonsfaktor
Kg	Kilogram
L	Liter
LW	Levervekt
mm	Millimeter
NOK	Norske kroner
P - verdi	Sannsynlighet (α -nivå)
PUFA	Fleirumetta feittsyrer (Poly unsaturated fatty acid)
Rensefisk	Rognkjeks og ulike leppefisk artar nytta til beiting av lakselus
SEM	Standard error av gjennomsnitt
SD	Standardavvik
SGR	Spesifikk vekstrate
t	Tid – dagar
VSI	Vicera somatisk indeks
VW	Vicera vekt
W	kroppsvekt
μm	Micrometer

Innholdsfortegning

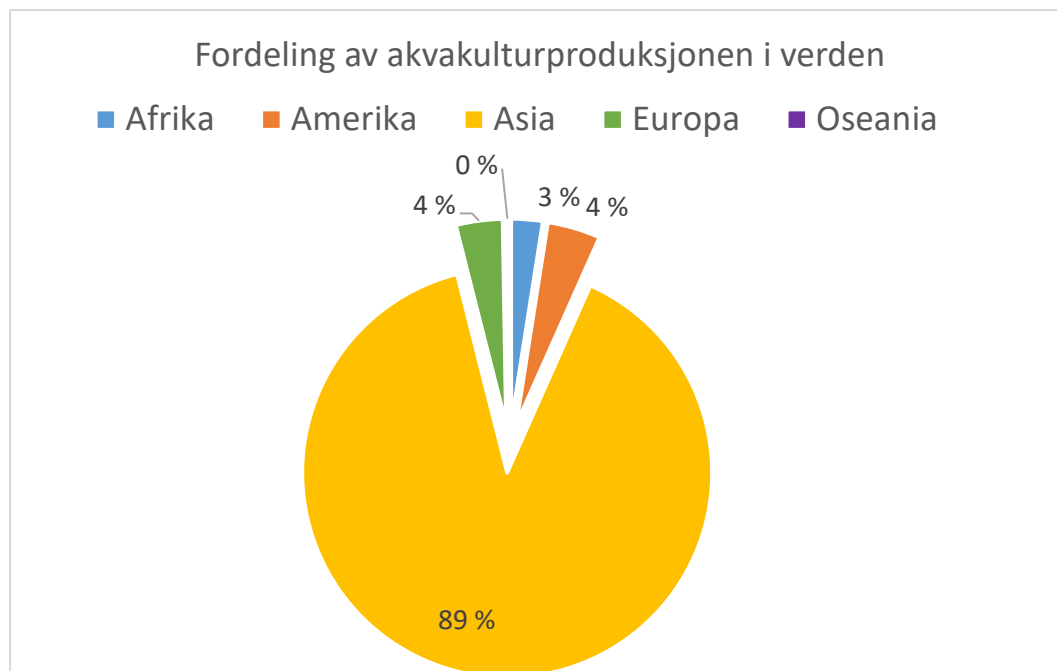
Summary	ii
Figurliste	iv
Tabelliste	v
Forkortingsliste	vi
1. Introduksjon	3
1.1. Global akvakulturnæring	3
1.2. Fiskeolje og behov for erstatning	4
1.3. Velferd og luseufordringa	6
1.4. Rognkjeks.....	8
1.4.1. Rognkjeks biologi.....	8
1.4.2. Oppdrett av rognkjeks og utfordringar	10
1.5. Endringar i fisk med auka inklusjon av vegetabiliske oljer.....	14
1.6. Problemstilling	16
2. Materiale og metode	17
2.1. Fisk og Kar.....	17
2.2. Prøveuttak	18
2.3. Fôrformulering	19
2.4. Biometriske kalkuleringar	22
2.5. Histologi.....	23
2.5.1. Mikroskopering og måling.....	23
2.5.2. Tjukkelse av lamina propria og lengde tarmfold.....	24
2.5.3. Tal og areal av slimceller	25
2.6. Proksimal samansetning.....	27
2.7. Fuktighet og oske	27
2.8. Råprotein	28
2.9. Råfeitt.....	29
2.10. Feittsyreanalyse	30
2.11. Statistisk analyse.....	31
3. Resultat	32
3.1. Vekt heilfisk.....	32
3.2. Standard lengde	33
3.3. Breidda	34
3.4. Høgd heilfisk.....	35
3.5. Kondisjonsfaktor.....	36

3.6.	<i>% Dagleg tilvekst</i>	37
3.7.	<i>VSI indeks</i>	38
3.8.	<i>Hepatosomatisk indeks</i>	39
3.9.	<i>Tjukkelse lamina propria og lengde tarmfold</i>	40
3.10.	<i>Måling av slimceller</i>	41
3.11.	<i>Proksimal samansetning</i>	42
3.12.	<i>Feittsyresamansetning</i>	44
4.	Diskusjon	47
4.1.	<i>Vekst</i>	47
4.2.	<i>Proksimal samansetning</i>	49
4.3.	<i>Histologi</i>	52
5.	Konklusjon	53
Vedlegg 1:	54
Referanselista	55

1. Introduksjon.

1.1. Global akvakulturproduksjon

Verdens behov for mat, og ikkje minst gode proteinkjelder er stadig aukande med ein stigande populasjon (FAO, 2018). FN har eit mål å utrydda fattigdom, nedkjempa ulikskap og stoppa klimaendringar innan 2030. Ein av punkta i denne planen er å utrydda svolt, oppnå mattryggleik, forbetra ernæring og fremja ein bærekraftig matproduksjon ("FNs bærekraftsmål," 27.09.2015). I 2016 var den globale produksjonen av sjømat frå akvakultur rundt 80 millionar tonn (FAO, 2018). Brorparten av denne produksjonen stammar frå produksjonen av ulike karpeartar som lev i ferskvatn, kor størsteparten av dietten deira er basert på vegetabiliske råvarer. Satt i samanheng er Atlanterhavslaks (*Salmo Salar*) er den 9. største arten i volum, men den 2. største i verdi, berre forbigått av kvithalereke (*Paneus Vannamei*) (FAO, 2018). Med ein aukande produksjon av fisk kjem også eit aukande behov for gode førkjelder, ettersom fiskemjøl og fiskeolje er avgrensa resursar. Figur 1 nedanfor oppsummerer den tydelege asiatiske dominansen innan på verdas akvakulturproduksjon, og nesten 9/10 av verdas akvaproduksjon aleine kjem frå Asia.



Figur 1: Fordeling av verdas akvakulturproduksjon i 2016 (FAO, 2018).

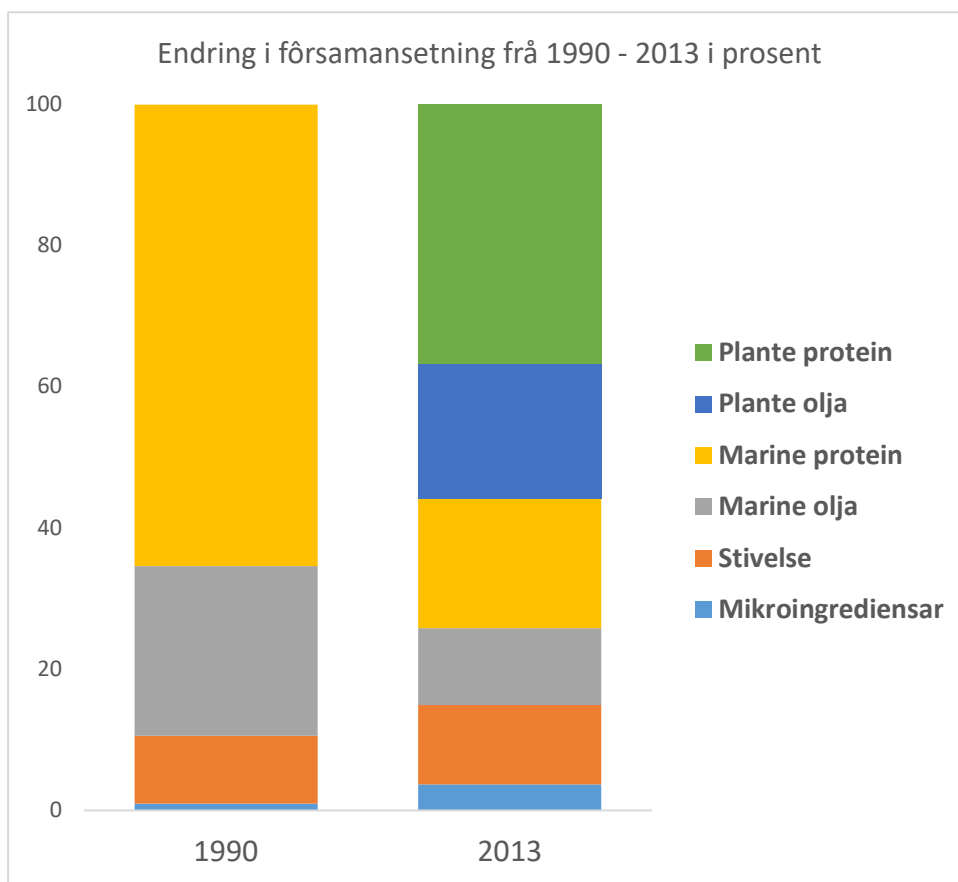
1.2. Fiskeolje og behov for erstatning

Frå dei om lag 1 000 000 tonna med fiskeolja som vart produsert globalt i 2009 (SeaFish, 2011), vart 81% brukt til å produsere fôr til akvakulturartar (Shepherd, 2011). Årleg produsert mengde av fiskeolja og fiskemjøl har vore høveleg stabil dei siste tiåra (FAO, 2017).

Fiskeolja viser store pris svingingar og den årlege produserte mengda er svært avhengig av fiskeriet i Peru. Om ein kan erstatte ein del av fiskeolja med rapsolje vil det bidra til at oppdrett av meir karnivore artar blir meir bærekraftig. Samtidig så bidrar den høge prisen for fiskeolje også sterkt til at fiskeolja vert meir og meir erstatta. Det er mykje debatt om bærekraftig fôr, og dersom ein nyttar store mengder fiskeolje i fôret, vert det ikkje rekna som bærekraftig (Gonzales-Felix et al. 2010). Innsatsen for å redusere mengda fiskeolje utan å setja fiskens vekst og helse på spel har kontinuerleg blitt forska på dei seinare år. Dette arbeidet har bidrege til at andelen fiskeolje i fôr til akvakulturartar har blitt sterkt redusert (FAO, 2014). Substitusjonen av marine råvarer i fiskefôr har blitt gjort i aukande grad dei siste 20 åra. Dette er på grunn av dei avgrensa mengdene marine råvarer som vert produsert kvart år og volatil pris på dei marine råvarene. Dette har ført til at den norske oppdrettslaksen inneheld ein vesentleg lågare andel omega 3 feittsyrer i dag, samanlikna med 20år sidan, då fisken vart fôra med reine marine råvarer (figur 2).

I oppdrett er det vanleg å nytta ein benevning for fisk inn / fisk ut, eller FIFO. Dette er ei benevning for å visa mange kilo villfisk som vert nytta for å produsere ein kilo oppdrettsfisk. FIFO for laks og aure var 0,82 i 2015. Mens den var 2,57 i 2000 (IFFO, 2016). Her har dei rekna med fangsta fisk, då dei vert stadig flinkare å nytte biprodukt frå fiskeri til fiskeolje og fiskemjølproduksjon. Desse verdiane er betre enn ein klarar å oppnå samanlikna med landlevande dyr. Denne raten vert også påverka av kva villfisk ein nyttar til å produsere olja, då nokon artar er meir feittrike enn andre. Dersom ein også reknar inn fôr nytta til rognkjeksproduksjonen vil FIFO raten stige. Forskinga og utviklinga for å utvikle nye kjelder til n-3 PUFA i akvakulturfôr er stor. I eit forsøk av Sprague et al. (2015) vart det utforska moglegheitene for å nytte DHA rikt algemjøl i fôr til atlantehavslaks. Ein anna fordel med erstatninga er også redusert innhald av miljøgifter, då fiskeolje er ei kjelde til det (Sprague et al. 2015). Mikroalger er tross akt primærprodusentane av dei gunstige langkjeda

marine feittsyrene som EPA og DHA, som i dag har eit stort fokus. Opphavet til fiskeolja har også stor betydning for innhald av miljøgifter, då den sørlege fiskeolja har eit lågare nivå av miljøgifter (Sprague et al. 2010). I figur 2 kan ein sjå kor stor endring det har vore i bruken av marine råvarer i fôret nytta til oppdrett av laksefisk i Norge frå 1990 til 2015. I 1990 vart det ikkje nytta vegetabilsk protein i fôret, mens det nesten er 50% av innhaldet som vert nytta no. Biomar AS som er ein av 4 store oppdrettsfôr produsentar i Noreg, har produsert 350 000tonn fôr med algemjøl (AlgaPrime, Corbion), (Berge A., 2019). Dette vert nytta for å redusere behovet for fiskolje, utan at det går ut over omega-3 PUFA innhaldet.



Figur 2: Endring i fôrsamansetning til laks frå 1990 til 2013 (Ytrestøyl et al. 2015)

1.3. Velferd og luseufordringa

Fiskevelferd er det som er mest utfordrande å ivareta for akvakulturindustrien, då både medikamentelle og medikamentfritte lusebehandlingar som for eksempel behandling med temperert vatn, spyling eller børsting av lakselus er belastande for fisken. Vaksinar og andre preventive tiltak er mykje meir ynskjeleg og mulegheita for å utvikle vaksine mot lakselus vert undersøkt. Den norske oppdrettsnæringa brukar i dag vaksinar mot 6 (7 i områder med pankreas disease), vanlege sjukdommar, som bidreg til å redusere svinn. Som ein konsekvens av sterkt belastande avlusingar, har dødelegheits talla stige dei siste åra (SSB, 2018). I akvakulturforskriftens §63 står det at all settefisk av laks og regnbogeauge som eit minimum må vaksinerast mot furunkulose, vibriose og kaldtvannsvibriose (Lovdata, 2008). Ein har også innført ein rekke andre tiltak, som sone inndeling og brakkleggingsperiodar for å redusere smittepress frå både lus og sjukdom. Fram til rundt 2011 hadde kjemiske terapeutiske middel (azametifos, cypermetrin og deltametrin) god effekt i badebehandling (Fiskehelse rapporten, 2018). Desse avlusingane belasta fisken mindre enn dei ikkje medikamentelle behandlingane (temperert vatn, spyling, børsting) som vert utført i dag. Men grunna overdriven bruk så har desse middelene mista effekten. Tabell 1 viser endringa i bruk av medikamentelle behandlingar. Årsaka til dei mange avlusingane i år 2014-2016 er i stor grad dårleg virkningsgrad.

Tabell 1: Oversikt over medikamentelle og ikkje medikamentelle behandlingar frå 2012 – 2018 (Fiskehelse rapporten 2018)

Kategori	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Medikamentelle behandlingar	2249	2185	3477	3269	1941	779	484
Ikkje medikamentelle behandlingar	136	110	176	185	1174	1673	2017
Sum	2385	2295	3653	3454	3115	2452	2501

Desse middela vart i ein kort periode erstatta av hydrogenperoksid, men dette er svært hardt for fisken og miljøet (Burridge et al. 2010), det vart også utvikla resistens mot dette på få år (Jansen et al. 2016). Samanlikna med desse metodane er rognkjeks eit bra alternativ for å ivareta velferda til laksen. For å ha best mogleg velferd for laksen så er det nødvendig med rensefisk, og rognkjeks er den einaste rensefisken som vert oppdretta i stor skala per dags dato, sjølv om det er noko oppdrett av bergylt (*Labrus Bergylta*) (2019).

Dei første utbrudda av lakselus starta omtrent like fort som oppdrettet starta med sjøanlegg på seint 60talet. Dei opne merdane gav lakselusa stor tilgang til vertar, og då var det ikkje så strenge reguleringar på mengd lus per fisk, det vart gjerne ikkje avlusa før lusa var på eit skadeleg nivå for fisken. For stor fisk så skal det være høge nivå av lakselus før det vert skadeleg for laksen og i dag er det innført strenge regelverk på lusemengd. I seinare år har lakselusa vore den desidert største utfordringa for norsk oppdrettsnæring (Fiskehelse rapporten, 2018). I 2017 vart direkte avlusingskostnadar i norsk lakseoppdrett stipulert til heile 9kr/kg produsert laks (F. Kalager, T. Hellen, 2018). Dette er direkte kostnadar og som ikkje har gått ned siste åra. Enkelte områder med høgt lusepress får betydelig større kostnadar, det er ikkje heilt uvanleg at ein kjem opp i 10-16 avlusingar per generasjon (Barentswatch.no).Lakselusa et av slimlaget, skinn, blod og underliggande muskelag til laksen. Dette kan igjen føre til auka mogelegheit for sekundærinfeksjonar, nedsett immunsystem og osmotisk stress (Wells et al. 2007; Johansen et al. 2011). Dei mest alvorlege skadane vert påført av pre-adult og adulte stadie av lakselusa. Fysiologiske effektar av lakselusa blir først oppdaga ved vesentleg høgare nivå enn oppdrettsfisken får, då den først er skadeleg med 0.1lus / gram fisk, (HI., 2014). Då lovverket seier at det maksimalt kan være 0.5 kjønnsmodne holus per fisk. Som ein konsekvens av sterkt belastande avlusingar, har dødelegheits talla stige dei siste åra (SSB, 2018).

1.4. Rognkjeks

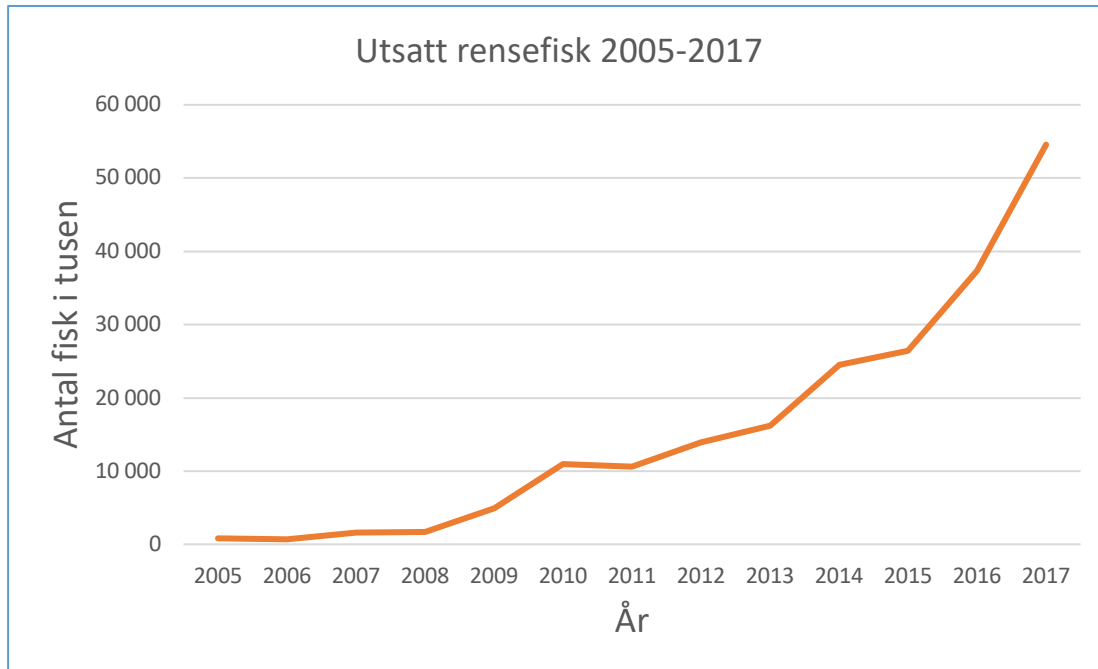
1.4.1. Rognkjeks biologi

Rognkjeksens fins naturleg langs heile Norskekysten (Holst, 1993) og i store delar av Nordatlanteren, frå 80° nord til Portugal heilt i sør. På norsk så vert rognkjeks hannen kalla rognkall og hoa vert kalla rognkjeks. Hoa vert betydeleg større enn hannane, den kan bli opp mot 10 kilo. Rognkjeksens er ein semi-pelagisk art. Den har ein rund kropp, med tjukk hud og sju rekker beinknutar på sidene og buken (Eriksen, Durif, & Prozorkevich, 2014). Den har også ein stor sugeskopp mellom brystfinnane på buken som rognkjeksens nyttar til å feste seg til tare, stein og skjul i sjøen (Davenport, 1985). Vinterstid står dei ofte djupt, mens dei vandrar opp på grunnare vatn for å gyta på våren.

Gytetida til rognkjeksens er frå mars-juli, noko som variera utifrå temperatur og breiddegrad. Rognkjekshoa vert kjønnsmodne ved 3-5 års alder og kan leggja rundt ein halvliter rogn, som tilsvara ca 60 000 rognkorn og rogn er ofte lagt i tidevassona. Desse rognkorna vert lagd som ein klebrig klump som rognkallen beskyttar til dei klekker (Garcia-Mayoral et al. 2016). Dei nyklekte larvene er 4,5-5 mm og larvene manglar symjeblære, men dei utviklar sugeskiva etter 4 døgn. Yngelen bruker ein til to år i tarebeltet, før dei går over til den pelagiske sona (Moring & Moring, 1991). Rognkjeksens er aktiv heile året, og har god appetitt heilt ned mot 3°C (Ingölfsson & Kristjánsson, 2002). Dette gjer den særst godt eigna til bruk i som avlusar i Norsk oppdrettsnæring.

Rensefisk har vorte nytta som ein biologisk avlusingsmetode lenge, men det er berre sidan 2012 at oppdretts rognkjeks har vore tilgjengeleg (Fiskehelsesrapporten 2018). Hovudfordelen med oppdretta rognkjeks er at ein kan ha tilgang til rensefisk store delar av året, ikkje berre i leppefisk sesongen som er frå midten av juli (varierer utifrå gytetida til leppefisk) til oktober. Dette er i tillegg til at rognkjeksens vert regna som meir temperatur tolerant på lave temperaturar samanlikna med anna rensefisk (Fiskehelsesrapporten, 2018). Enkelte nyttar til og med rognkjeks som avlusingsmetode, ved å tilsette opp mot 40% innblanding av rognkjeks når lusepresset er blitt høgt. Dette skjer som regel i samband med at rognkjeks produsentane har overkapasitet og dermed selg den med rabatt. Figur 3 viser ein tydeleg auka i bruk av rensefisk i perioden 2005-2017. I år 2017 vart det innført fangstkvote fiskeriet av leppefisk, der fiskarane tidlegare berre forhalda seg til fangstsesong. I 2018 var denne på ca 18 millionar villfanga rensefisk (SSB). Dette medfører at rognkjeksens vert enda meir etterspurd, då

mengda villfanga fisk vart redusert med denne nye reguleringa (SSB). I tillegg til sterkt auka resistens mot kjemiske avlusingsmiddel og høge lakseprisar dei siste åra, bidreg det til ein sterk auke i etterspørsel.



Figur 3:Utvikling i bruk av renseskisk i perioden 1998-2017 i tal 1000, (fiskeridirektoratet 2017)

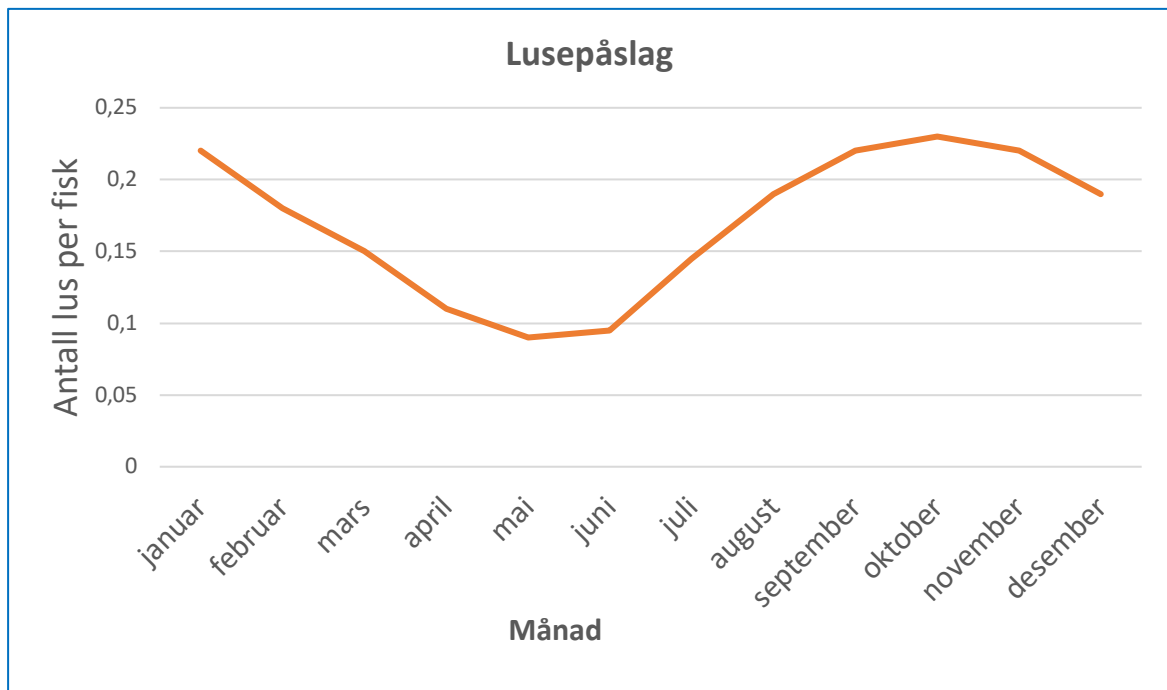
1.4.2. *Oppdrett av rognkjeks og utfordringar*

Størsteparten av den oppdretta rognkjeks kjem per dags dato frå villfanga stamfisk. Aquagen AS har nyleg starta avlsprogram på rognkjeks og dei håpar å få bukt med den høge dødelegheita på rognkjeks i sjøfasen. I tillegg ynskjer dei å auke andelen av rognkjeks som et lus (Aquagen AS). I oppdrett vert rognkjeks yngel produsert ved å blande rogn og mjølke frå stamfisken. Befrukta egg treng mellom 270-300 døgngader før dei klekker, ved ein låg temperatur for å unngå deformitetar (helst 6-8°C). Rognkjeks har som regel ein god klekkeprosent (>95%) og ein av dei faktorane som gjer rognkjeks spesielt godt egna til oppdrett er at dei kan gå rett over på formulert fôr (Sintef, 2016). Til tross for dette vel fleire å gje artemia som startfôr, rundt 30 døgngader etter klekking for å betre fôropptak og overleving. Avhengig om klekkeria brukar artemia eller ikkje, så har dei minste granulutfôra ein partikkelstørrelse på 150µm.

Sortering er svært viktig av rognkjeks, då dei er kannibalistisk. Dette er spesielt frå klekking til dei er 4-5gram. Det er ulik praksis rundt om kring i landet, men dei fleste aktørane sorterar frå fisken er ca 0.2gram og så kvar 2.-3. veka til dei er salgbare ved rundt 20-30gram. Rognkjeks er oksygensensitiv og kan få hypoxia allereie ved 80% oksygenmetning (Jørgensen et al, 2017). Dei er også utsatt for fleire bakterielle sjukdommar og vert vaksinert, dette skjer manuelt ved at kvar fisk vert injeksjonsvaksinert i eit lite holrom dei har i buken. Rognkjeks tåler ikkje intramuskulær vaksine, feilstikk kan vere fatalt og dette medfører at vaksineringa vert utfordrande. Minimumsstørrelse for stikkvaksine er 8gram, men det er ikkje uvanleg med ein dyppvaksine for yngel som beskyttar fram til den kan stikkvaksinerast. Det er vanleg å vaksinere rognkjeks mot vibriose (*Vibrio anguillarum*), vintersår (*Moritella viscosa*) og atypisk furunkulose (*Aeromonas salmonicid*) ca 5 veker før utsett i sjø. Amøbe gjelle sjukdom som er forsaka av *Paramoeba perurans* og kan smitte frå rognkjeks til laks, det nødvendiggjer overvaking av sjukdom status før utsett i merd. Dødelegheit og problem som direkte eller indirekte følger handtering av laksen, finneråte, sår og bakterielle sjukdommar er den største velferdsmessige utfordringa til rognkjeks i dag (Fiskehelse rapporten 2018).

For at rognkjeks skal trivast i fangenskap må den også ha mulighet til å finne skjul i merden. Det vert vanlegvis nytta kunstig tare av plast eller andre løysingar som gjer rognkjeks store

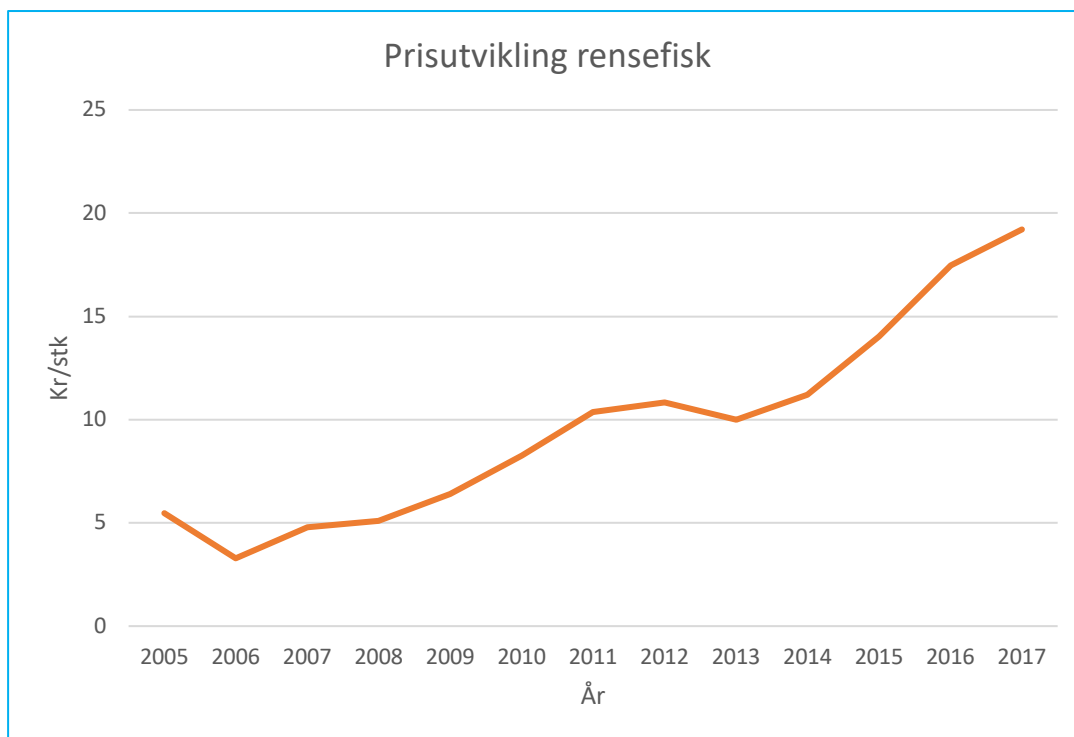
rolege areal der den står i skjul for straum og laksen. Denne kunst taren må haldast rein, nett som alt anna som er i merden (dødfiskhandteringsutstyr, lys, tauverk, fôringsutstyr osv.) Nota må også haldast rein, slik at rognkjeksene i størst mogleg grad beitar på lakselus, og ikkje på diverse naturlege fôrkjelder (Eliassen et al. 2018). Rognkjeksene nyttar store delar av dagen på å beite i merden om dei vil ha mat. Dersom dei ikkje skal beite vil dei kvile, anten festa til ei flat overflata eller «svevande» like under (Powell et al, 2017). Figur 4 viser gjennomsnittstallene i lus per fisk for heile Norge i perioden 2013-2017. Figuren syner store månadlege forskjellar i mengda lus desse åra, den viser den tydelege trenden i lusepåslag. Påslaget aukar i juni ettersom sjøtemperaturen stig, denne trenden fortsett til september/oktober. Før det går nedover igjen frå desember mot mai/juni. Dette syner også viktigheta av oppdretta rognkjeks, spesielt med tanke på at den kan settast i sjø samtidig som vårutsettet av laks vert satt ut i mars/april. Så ein slepp vente på fangstsesongen for villfanga rensesk.



Figur 4: Gjennomsnittleg månadsvis lusepåslag i perioden 2013-2017 (Lusedata.no)

Årleg produksjon av rognkjeks vil i 2018 havna på rundt 40 millionar fisk (Kontali analyse AS), snittprisen på rognkjeksene er mellom 23kr og 25kr stk, mens snittprisen på villfanga rensesk er på rundt 13kr (avhengig av art, bergylt ligg på nærare 30kr stk, Kontali analyse AS). Ei potensiell utfordring for bruken av rognkjeks er prisen. Men om ein samanlikna med

prisane knytt til alternative lusebehandingar vert den ofte akseptert, sjølv om det er store kostnader knytt til hald av rognkjeks, i tillegg til innkjøp (Kalager, F. Hellen T., 2018). Sjølv om rognkjeksen er vesentleg dyrare, vert den nytta i større grad enn villfisk, mykje på grunn av at det er tilgang store delar av året. Prisen på rensfisk var forholdsvis stødig til år 2008, omtrent same tid som lakseprisane steig betydeleg og resistensen mot enkelte medikamentelle avlusingsmiddel. I kostnadskurva bidrar villfanga leppefisk til å dra ned snittet, mens den oppdretta rognkjeksen drar opp snittet. I figur 5 kan ein sjå den brå utviklinga i prisen på rensfisk.



Figur 5: Kostnadsutvikling for rensfisk i perioden 1998-2016 (fiskeridirektoratet, 2018)

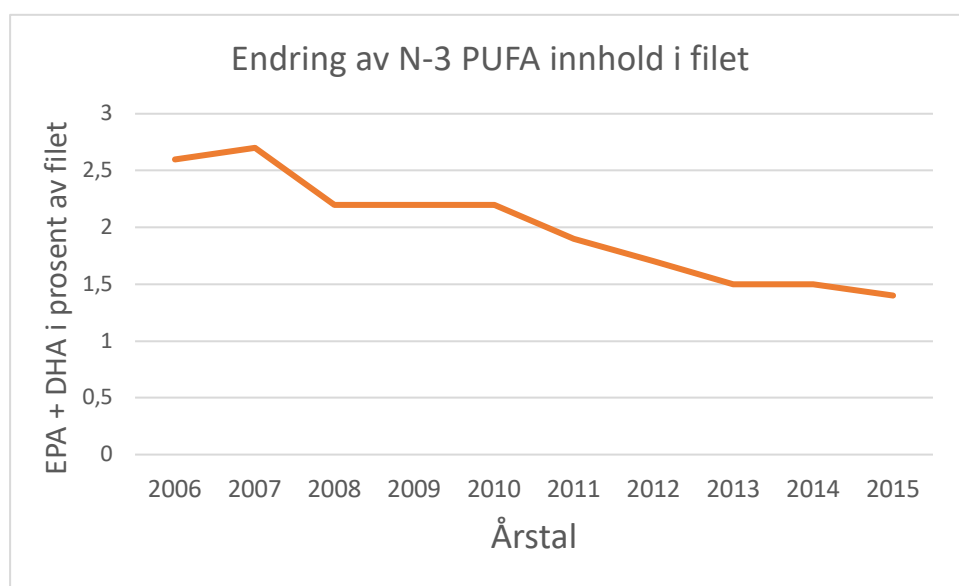
Det er ikkje publisert noko forskingsresultat knytt til ernæring og næringskrav til rognkjeks. Forskinga på rognkjeks har i all hovudsak dreia seg om bruk av rognkjeks som rensfisk, og korleis ein skal forbetra rognkjeks som avlusingsverktøy. Ettersom ein vil at rognkjeksen skal ete så mykje lakselus som mogleg, prøver ein å styre dei inn på dette. Truleg vil ikkje rognkjeksen kunne leve på berre lakselus, så den treng andre næringskjelder i tillegg. Det er funnet lakselus i abdomen til vill rognkjeks (Ingólfsson and Kristjánsson, 2002), så det er ein del av den naturlige dietten deira. Enkelte gangar kan ein finna opp mot 100 lakselus i ein enkelt rognkjeks, så det er tydeleg at nokre rognkjeks synest lus er godt, desse ynskjer ein å

avle på (Aquagen AS). I periodar med mykje tilgjengeleg naturleg føde vil rognkjeksken søke dette, ete mindre lus og mindre formulert fôr (Eliassen et al. 2018). Mattilsynet krev no at ein skal føre rognkjeks med fôr formulert for rognkjeks. Og dette vert gjort med eigne fôringsautomatar. Det er vanlegvis fôring eit par timar for dagen, men ettersom rognkjeksken har tilgang på mykje naturleg føde i merden (Eliassen et al. 2018) vil den ha tilgang til næring døgnet rundt. Den viste også sterk sesongavhengighet til ulik føde (Eliassen et al. 2018). Den villfanga leppefisker skal også ha eige fôr om det vert nytta i tillegg.

Rognkjeksken er ofte det som er lettast tilgjengelig, og varierer dermed næringsinntak stort ut frå miljø og årstid (Imslund et al. 2015). I forsøk har det vist seg at enkelte fôrstoff som blåskjellyngel som er tilgjengelig berre delar av året, vert nytta flittig i dei periodane, sjølv om ein prøver å spyle for å halde reine nøter for å redusere denne fôrkjelda. I periodar med svært mykje zooplankton i sjøen vert avlusningseffekten til rognkjeksken sterkt redusert (Eliassen et al. 2018). Så sant størrelesen på rognkjeksken og laksen ikkje er jamn, slik at rognkjeksken vert for liten til å ete stort laksefôr (>5mm pellet) vil laksefôr stort sett heile tida vere tilgjengelig som fôrstoff. Men næringsmansetninga i laksefôr er mest truleg ikkje fullgod for rognkjeks, då det tross alt er ein ganske så ulik art. Laksafôret er svært feitt, og rognkjeksken kan få oppsamlingar av feitt i lever (Imslund et al. 2019). Men det vart gjort eit forsøk på konsekvensane for laksen av at rognkjeksken et laksafôr, der fann dei ingen signifikant påvirkning i fôrfaktor (Imslund et al 2014c).

1.5. Endringar i fisk med auka inklusjon av vegetabiliske oljer

Rapsolja vart nytta i forsøket vårt då den er ei av dei vegetabiliske oljene med mange langkjeda feittsyrer, sjølv om dei manglar n-3 PUFA (Mourente & Bell, 2006). Rapsolja har ei ulik feittsyresamansetning enn fiskeolja (savinor). Dette medfører at rognkjeksen også trulig vil få litt ulik feittsyresamansetning, med forskyving mot C18 feittsyrer og mindre langkjeda (>20) fleirumetta feittsyrer. I figur 6 kan ein sjå den omfattande endringa i n-3 PUFA frå 2006 – 2015 innhald i filet av norsk oppdrettslaks, som ein konsekvens av den endra førsamansetninga.



Figur 6: Endring i mengde n-3 PUFA i laksefilet frå 2006 til 2015. (Sprague et al. 2016)

Fôrformuleringa til rognkjeks er noko som er førska svært lite på. Så eg tok kontakt med to store fôrprodusentar i Noreg for å høyre kva protein og feittkjelder dei nytta, og det var ulike svar. Ewos sitt lumpus fôr inneheld i hovudsak fiskemjøl som proteinkjelde, men også litt soyaproteinkonsentrat. Som feittkjelde nyttar dei mest fiskeolja, men også litt rapsolja og linolja. Skretting nyttar fiskemjøl, akkarmjøl og krillmjøl som proteinkjelde, og rein fiskeolja som feittkjelde. Dei nyttar store delar fiskemjøl og fiskeolje då dette skjeldan gjer negative resultat for fisken. Komplette og delvis erstatning av fiskeolja med vegetabiliske oljer vil berre vera mogleg om det er tilstrekkeleg med essensielle feittsyrer i dietten (Nasopoulou C., Zabetakis I. 2012). For ferskvassfisk så kan behovet til essensielle feittsyrer bli oppfylt av 18:2 n - 6 og 18:3 n - 3 feittsyrene som er å finne i enkelte vegetabiliske oljer då desse artane kan syntisere i større grad, mens marine fisk i større grad treng langkjeda n-3 PUFA i dietten

for optimal vekst og helse (Watanabe, 1982). For mange artar går det heilt fint å erstatte heile eller delar av feittkjelda i fôret, konsekvensane kjem først i form av endra feittsyresamansetning i filet (Teoh et al. 2016; Mourente et al. 2005; Torstensen et al. 2004). For tilapia og karpa har høge nivå av n-3 i dietten vist seg å redusere vekst (Kanazawa et al. 1980; Ng et al. 2001), dei fann heller ingen fordelar av å ha n-3 i fôret til tilapia (Takeuchi et al. 1983). Tilapia og karpa er herbivore artar, og har då andre behov enn ein karnivor / omnivore art som rognkjeks. Forsøk med piggvar (*Psetta maxima*) som vart fôra 50% fiskeolja og 50% soyaolje eller linolja opplevde reduksjon i vekst samanlikna med piggvar fôra 100% fiskeolja (Regost et al. 2003). Piggvar har eit essensielt feittsyrebehov på 0.6 – 1.3% n-3 PUFA (Turchini et al. 2009). Berggylt (*Labrus bergylta*) som også er ein art nytta som rensefisk et naturleg blandt anna krabbe (*Carcinus maenas*) og blåskjell (*Mytilus edulis*) som inneheld høge nivå av langkjeda n-3 PUFA som EPA og DHA i feittet (Naczek et al. 2004; Fernandez et al. 2015). Berggylta vaks bedre når den fekk høgt nivå av EPA og DHA i dietten (Kabeya et al. 2018). I forsøk med camelina olja som substitusjon for fiskeolja i laksesmolt fann dei at det gjekk bra å erstatte 100% av fiskeolja utan å redusere veksten (Ye et al. 2016). Dei ulike resultatata for dei ulike artane viser kor viktig det er at det vert forska på næringskrava til rognkjeks, ettersom kunnskapen om krava er låg.

1.6. Problemstilling

Formålet med studiet var å sjå korleis rognkjeks respondera på ein diett der fiskeolje vart erstatta i aukande grad med planteolje (rapsolje). Dette vart gjort vet at fiskeolje i forsøket vart gradvis erstatta av rapsolje (25%, 50% og 100%) i forsøksfôra, mens kontrollgruppa gjekk på 100% fiskeolje. Det er viktig å veta kor mykje fiskeolje ein kan erstatte i dietten utan å påverke rognkjeksens vekst og helse negativt. Dette vart vurdert utifrå 1) vekst, 2) næringsinnhald, 3) feittsyresamansetning og 4) tarmhistologi. Ein anna gunstig følge av erstatninga av fiskeolje med ei vegetabilsk kjelde er at det vil auke bærekrafta i norsk akvakulturnæring.

Følgande spørsmål stod sentralt og skal forsøkast besvarast.

- Vil veksten til rognkjeks bli påverka av auka innhald rapsolje i fôret?
- Vil tarmhelsa til rognkjeks bli påverka ?
- I kor stor grad vil kjemisk- samt feittsyresamansetninga bli påverka?

2. Materiale og metode

Forsøket inkludert alle prosedyrar og handtering vart utført i henhold til retningslinjene satt av forsøksdyrutvalget i Norge. Studentar og tilsette knytt til prosjektet har trening og godkjent sertifikat før start av forsøket.

2.1. Fisk og Kar

Fôringsforsøket vart utført ved Mørkvedbukta forskningstasjon, og laboratorie analysane vart gjort ved fakultetet for akvakultur og biovitenskap ved Nord Universitetet i Bodø. Fisken vart kjøpt av ein lokal rognkjeksoppdrettar, Mørkvedbukta AS. Fisken vart fordelt i 12 tankar med tilfeldig fordeling, og det blei gjedd ulike fargekodar for dei ulike diettane som inngjekk i forsøket. Det vart satt ut 215 fisk per kar, totalt 2580 fisk. Forsøket gjekk frå 01.09.17 til 27.10.17. Fisken hadde ei startvekt på ca 4gram, før akklimatiserings perioden på 2 veker. I denne perioden vart fisken fôra med same fôr som oppdrettaren hadde brukt på den (Silk, Skretting). Prøveuttak vart gjort ved veke 0, like før introduksjon av forsøksdiettane, ved 3 vekers og ved veke 6. Ved veke 6 (27.10.17) vart forsøket avslutta og all fisk avliva med ein overdose Ms-222 (Tricaine methane sulphonate; Argent Chemical Laboratories, USA; 30g/L). Figur 7 viser karfordelinga gjennom forsøket.



Figur 7: Tilfeldig karplassing, fargekodar indikerer dei ulike diettane; (Blå – kontrolldiett, Grøn – 25% RO diett, Gul – 50% RO diett, Raud – 100% RO diett)

Kara som vart nytta hadde eit volum på 500liter. Automatfôring og oksygentilsetning vart nytta. Oppdrettsforhalda i kara var lik under heile forsøket, vassstemperatur, oksygen, salinitet, flow, pH og lys var likt. Einaste skilnaden i forsøket var fôret. Før forsøket tok til vart fisken akklimatisert i 2 veker, med fôret den hadde fått av oppdrettar for enklare overgang. Lyset vart kontrollert av 4 lampar med 24 timas lys, og skal likna på det som vert brukt kommersielt, med dimma lys som lyser mot taket. Flowen var sett til 400l/t. Snittemperaturen var 8°C. Fôringa skjedde 8 gongar for dagen (06.00 – 08.30, 08.30 – 11.00, 11.00 – 13.00, 13.00 - 15.00, 15.00 – 17.00, 17.00 – 19.00, 19.00 – 21.00 and 21.00 – 22.00). Fisken blei fôra til metthet. Einingane fekk dagleg tilsyn, der kara vart flusha og reinsa for overskuddsfôr og feces. Oksygen og temperatur vart målt med ein handholdt OxyGuard.

2.2. Prøveuttak

All fisk vart veid etter akklimatiseringsperioden, ved oppstart av forsøket, og dette vart utført i perioden 11. - 12.09.17. Første prøveuttak vart utført 14.09.17 då 43 fiskar frå kvart kar vart veid, målt for standard lengde, høgd og breidde. I tillegg vart det avliva 10 fisk, der det vart tatt prøvar av visera og lever, desse vart veid for så å rekne ut HSI og VSI. Av dei 45 fiskane

vart også nokon fiksert i ei formalinløyning for histologiske analysar og nokon tatt som heilfisk og frosen ved -40°C for analyse av kjemisk samansetning. Prøvetakingsrunde to, omtalt som veke 3, vart utført 05.10.17. Her vart det tatt prøvar av 42-43 fisk i kvart kar, det vart målt vekt, standard lengde, breidde og høgd. I tillegg vart dei 10 første fiskane avliva, for så å ta målingar av visera og lever, desse vart veid for å finna ut HSI og VSI som for veke 0. Tarmar vart også fiksert i ei 4% formalinløyning for histologiske analysar. Det vart også tatt ut heilfisk som vart frosen for proksimal samansetnings analyse. Prøvetakingsrunde nummer 3, omtalt som veke 6, vart utført 26.10.17. Her vart det tatt prøvar av 40 fisk frå kvart kar. Det vart målt vekt, standard lengde, breidde og høgd. Det vart tatt ut 15 fisk som vart avliva og målt vekt på visera og lever på. Det vart også tatt ut heilfisk som vart frosen for proksimal samansetnings analyse. Dei resterande fiskane vart avliva med ein overdose Ms-222 (Tricaine methane sulphonate; Argent Chemical Laboratories, USA; 30g/L) og veid dagen etterpå (27.10.17).

2.3. Fôrformulering

Diettane i studiet vart det formulert til å vera ISO energetiske og blei produsert av Sparos Lda, (Olhão, Portugal). Fôret i forsøket vart oppbevart i romtemperatur i mørke bøtter, men vart frosen ved lengre tids lagring (mai – sept 2017). Det var ein kontrolldiett med 100% fiskeolja som feittkjelde, ein diett der 25% av fiskeolja er erstatta med rapsolja (omtala som 25% RO heretter), ein der 50% av fiskeolja er erstatta (omtala som 50% RO heretter) og ein der 100% av fiskeolja er erstatta med rapsolja (omtala som 100% RO heretter). Kontroll gruppa i forsøket nytta same diett (50% gruppa), som inngjekk i Nimalan N., (2018) forsøk, der denne dietten presterte best (25% erteprotein og 25% soyaprotein og 50% fiskemjøl samanlikna med 100% fiskemjøl). Innhaldsbetegninga for dei fire dietttane er vist i tabell 2. For å halde likt nivå på dei essensielle aminosyrene vart det tilsett tryptophan, methionin og taurin i erstatningsfôret. Histidin vart tilsett i alle dietttane i lik mengde. Det vart også tilført krillolja i alt fôret utanom forsøksdietten med 100% rapsolja. Krillolja vert ofte nytta som attraktant (Kolkovski, 2000). Tabell 3 viser kor stor forskjell det er på innhaldet av EPA og DHA i dei ulike forsøksdietttane.

Tabell 2: Forsøksdiett og fôr ingrediensar

Ingrediensar, %	Kontroll	OR25	OR50	OR100
	%	%	%	%
Fiskemjøl 70 LT (NORVIK)	29.000	29.000	29.000	29.000
CPSP 90	2.500	2.500	2.500	2.500
Krill mjøl (Aker Biomarine)	5.000	5.000	5.000	5.000
Soya protein konsentrat (Soycomil)	14.450	14.450	14.450	14.450
erte protein konsentrat	14.450	14.450	14.450	14.450
Kveite gluten	7.000	7.000	7.000	7.000
Kveite mjøl	6.950	6.950	6.950	6.950
Pea starch	5.350	5.350	5.350	5.350
Fiskeolja - SAVINOR	7.000	5.277	3.517	0.000
Krill olja	3.050	2.260	1.508	0.000
Raps olja	0.000	2.513	5.025	10.050
Vit & Min Premix PV01	1.000	1.000	1.000	1.000
Lutavit E50	0.050	0.050	0.050	0.050
Soy lecithin - pulver	0.000	0.000	0.000	0.000
Antioxidant pulver (Paramega)	0.200	0.200	0.200	0.200
Sodium propionate	0.100	0.100	0.100	0.100
MCP	0.980	0.980	0.980	0.980
Carophyll Pink 10% - astaxanthin	0.050	0.050	0.050	0.050
Nucleotider (Nucleoforce)	0.500	0.500	0.500	0.500
Kvitløks ekstrakt	0.500	0.500	0.500	0.500
L-Histidine	0.250	0.250	0.250	0.250
L-Tryptophan	0.170	0.170	0.170	0.170
DL-Methionine	0.350	0.350	0.350	0.350
L-Taurine	1.100	1.100	1.100	1.100
Totalt	100.000	100.000	100.000	100.000

Tabell 3: Samansetning, aminosyreprofil, vitamina, mineralar og fettstyrer i dei ulike diettane.

Andel av fôr	Kontroll	OR25	OR50	OR100
Råprotein	53.85	53.88	53.88	53.88
Råfeitt	13.42	13.41	13.41	13.41
Fiber	0.34	1.02	1.02	1.02
Stivelse	9.25	8.84	8.84	8.84
Oske	11.28	8.24	8.24	8.24
Energi	20.01	20.34	20.34	20.34
Arg	3.46	3.98	3.98	3.98
His	1.40	1.40	1.40	1.40
Ile	2.01	2.25	2.25	2.25
Leu	3.85	4.00	4.00	4.00
Lys	3.93	3.94	3.94	3.94
Thr	2.47	2.22	2.22	2.22
Trp	0.55	0.55	0.55	0.55
Val	2.51	2.59	2.59	2.59
Met + Cys	2.27	1.98	1.98	1.98
Phe + Tyr	4.50	4.52	4.52	4.52
Tau	1.18	1.21	1.21	1.21
Total P	1.72	1.43	1.43	1.43
Vit C	1000.00	1000.00	1000.00	1000.00
Vit E	350.00	350.00	350.00	350.00
EPA	1.58	1.30	0.98	0.36
DHA	1.97	1.41	1.08	0.41
EPA+DHA	3.55	2.71	2.06	0.76
Totale fosforlipid	2.63	2.21	1.87	1.19

2.4. Biometriske kalkuleringar

Følgande formlar vart nytta for kalkulasjonar av spesifikk vekst rate (SGR), kondisjonsfaktor (K), Hepatosomatisk indeks (HSI) og vicera somatisk index (VSI).

1) $SGR = (e^b - 1) \times 100$, der $b = (\ln(V2) - \ln(V1)) / (t2 - t1)$ og $V2 =$ våt vekt slutt (g), $V1 =$ våt vekt start (g), $t2 =$ siste dag and $t1 =$ start dag.

2) $K = (\text{våt vekt} / \text{lengde}^3) \times 100$

3) $HSI = (\text{lever våt vekt} / \text{våt vekt}) \times 100$

4) $VSI = (\text{gastrointestinal trakt våt vekt} / \text{kropp våt vekt}) \times 100$

2.5. Histologi

Prøvane som vart tatt i dette forsøket var frå midtarm, fremre tarm og blindsekkar. Det vart tatt prøvar frå 9 fisk frå kvar gruppe. Det vart berre undersøkt prøvar frå kontrolldiett gruppa og 100% substitusjons diett gruppa, i veke 0 og veke 6. Men grunna dårlig innfarging (manuell farging grunna øydelagd fargemaskin) vart antall prøvar for slimcelle prøvane redusert til 5 prøvar per gruppe, frå eit utval på 9. Vevet for histologiprovane vart umiddelbart etter prøvetaking fiksert i 10% buffra formalin i minimum 24timar. Etter buffring vart prøvane fiksert i parafin voks (Sakkura) i ein «Tissue-Tec Wax-Dispenser WD-4, Kunz instruments AS, Copenhagen, Denmark», før dei vart frosne til kutting. Kuttinga vart utført med ein «Thermo Scientific cool-cut Microm HM 355s». Tarmprøvane vart kutta i 5µm tjukkelse med 50µm avstand mellom snitta. Preparatglasa vart individuelt merka, tørka i eit døgn, og lagra til montering og farging. Snitta vart montert med Pertex monteringsmiddel (Chemi-Teknik AS) og 24mm x 36mm objektglas. Det vart tatt 4 eksemplar av kvar prøve på tre forskjellige dybder. Tre snitt frå kvar prøve vart farga med Haematoxylin (Merck KGaA, Tyskland) og Eosin (Merck KGaA, Tyskland). Og ein prøve vart Alcian blue og Periodic acid-Schiff farga (AB-PAS heretter) der det vart nytta Alcian blue (Merck KGaA, Tyskland), Schiff's reagent, (Merck KGaA, Tyskland) og Haematoxylin (Merck KGaA, Tyskland). Innfarginga av prøvane vart gjennomført med ein «Robot Stainer HMS 760x», men maskina hadde problem med tilførselen av vatn, så det vart dårlig vasking mellom fargetrinna. Preparatglasa var etter hydrering plassert 30 minutt i Alcian blue farge, før den vart oksydert i 10 minutt i periodic syra og deretter schiffs reagent i 20 minutt. Mellom farginga vart prøvane dyppa i vatn. Alcian blue innfarginga hadde ein pH på 2.5 i forsøket.

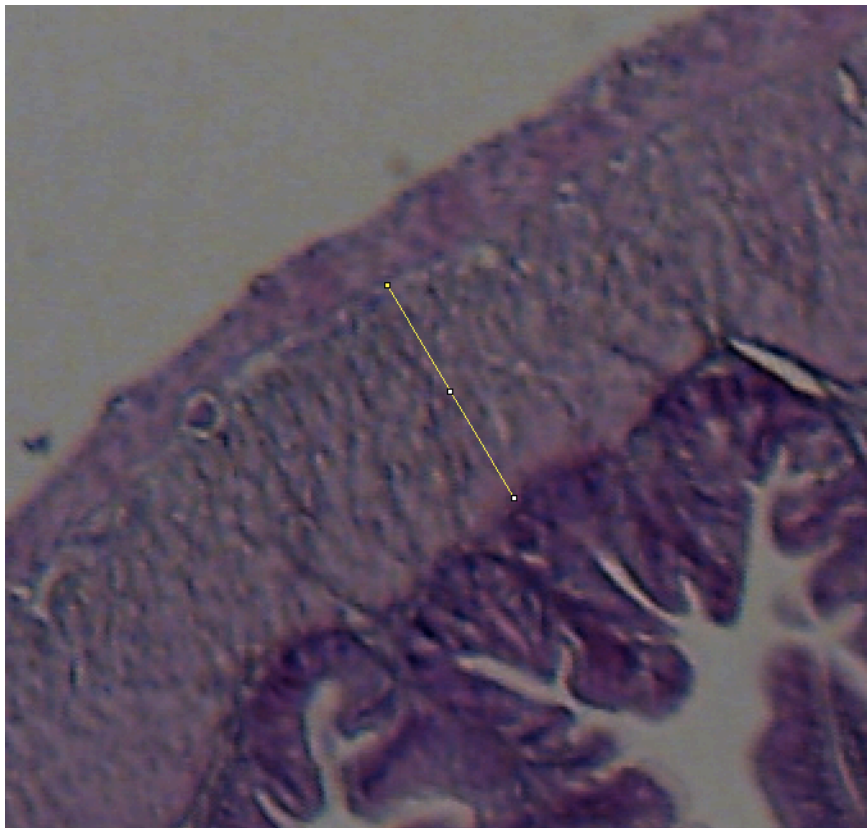
2.5.1. Mikroskopering og måling

Preparatglasa vart tatt bilete av med eit mikroskop (Axiosko2, Carl Zeiss, Tyskland) og kamera (AxioCam HRC, Carl Zeiss, Tyskland) kobla til ei datamaskin med softwaren AxioVision 4,8 (Carl Zeiss, Tyskland). Dette vart så behandla på datamaskin ved hjelp av programvara ImageJ. Preparatglasa farga med AB-PAS vart fotografert med 10x zoom, for betre detaljar av slimcellene. Haematoxylin og Eosin prøvane vart fotografert med 4x zoom for større prøveutvalg. Det vart tatt minimum 5 målingar av lengda på tarmfoldane per

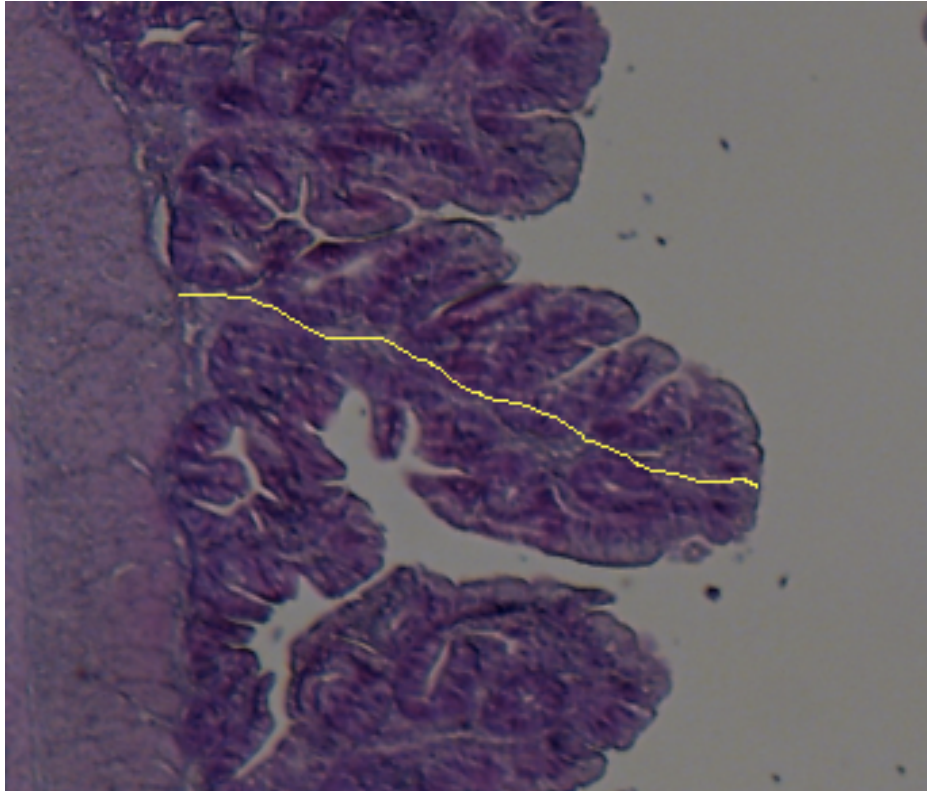
preparatglas, og 10 målinger av lamina propria per preparatglas, og det var 4 preparatglas per fisk. Men grunna litt dårlige snitt, vart det ikkje alle preparatglasa som var brukande.

2.5.2. Tjukkelse av lamina propria og lengde tarmfold

Lamina propria og tarmlengd vart målt på alle prøvane, og vart farga med Haematoxylin og Eosin og AB-PAS (desse vart nytta for å få større utvalg). Målingane her vart gjort på bilete med 4x forstørring. Tarmveggen vart definert som det muskelholdige ytre lag av tarmen opp mot det underliggende slimlaget (Figur 8). Målingane vart gjort med programvara ImageJ og det vart gjennomført 10 målinger per prøve, i 4 duplikat tilsvarande 40 målinger per fisk. Målingane av lengda av tarmfoldane vart målt som vist i figur 9, frå starten av tarmfolden til endes. Det vart gjennomført 5 målinger per parallell. Tarmlengda vart målt av tarmar som var i rett orientering (ikkje snitta på langs).



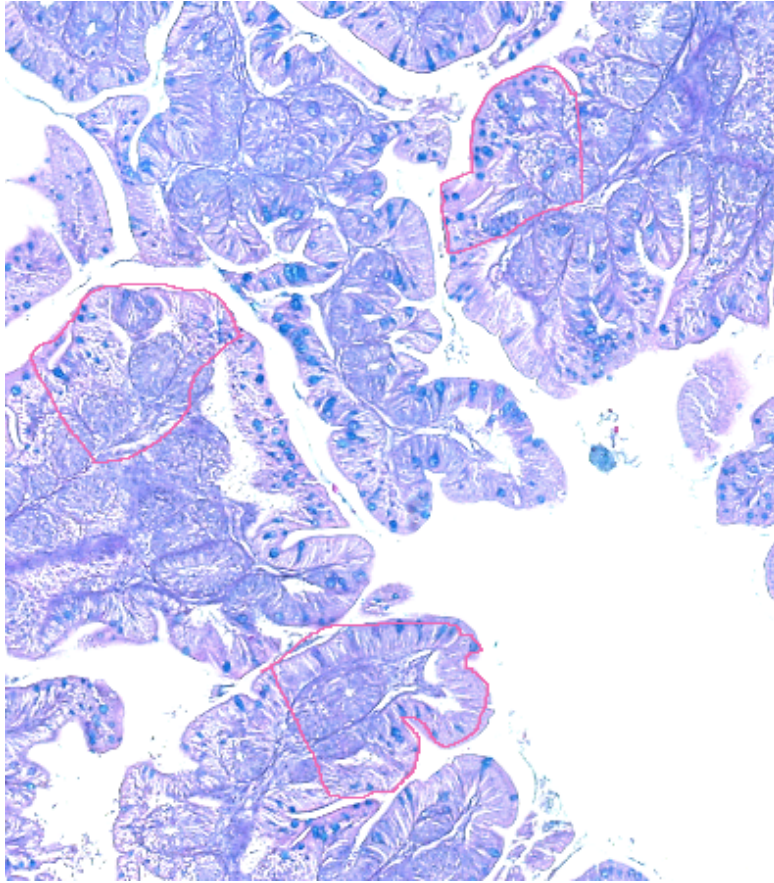
Figur 8: Målingsområde for måling av Lamina propria



Figur 9: Måling av lengda tarmfold

2.5.3. Tal og areal av slimceller

Måling av slimcellene krev større detaljnivå, så det vart nytta 10x forstørring med tilhøyrande omkalibrering av ImageJ. Slimcellene vart telt manuelt med programvara ImageJ, der det vart avmålt eit areal på $50\,000\mu\text{m} \pm 10\%$. Innanfor dette arealet vart tal og størrelse på slimcellene målt og målingane vart utført i triplikat på ulike områder av prøven. Denne prosessen vart utført tre gonger per preparatglas på ulike områder. Tal slimceller vart korrigert i forhold til faktisk størrelse med hjelp av excel, og areal dekkja av slimceller vart også utrekna. Snittet for desse tre målingane vart brukt som grunnlag for dei individuelle målingane. Målingsområdet vart tilfeldig valgt, men vart gjort i tilknytning ytre del av ein tarmfold (Fig. 10). Figur 10 viser eit døme, og er ikkje nøyaktig oppmålt. Ettersom farginga ikkje vart heilt optimal, vart det ikkje oppdaga noko anna enn blå (syre slimsubstansa) slimceller.



Figur 10: Illustrasjon av målingsområde for slimcelle undersøking. Dei raude områda har eit areal på $50\,000\mu\text{m} \pm 10\%$, tal målte slimceller er korrigert for faktisk størrelse.

2.6. Proksimal samansetning

På grunn av fiskens størrelse vart fisken satt saman i samleprøvar, der 6 fiskar utgjorde ein prøve, og det vart tatt 2 samleprøvar frå kvart kar. Prøvane vart homogenisert i 6 ganger i 15 sekundar i ein vanleg kjøkkenblender. Det vart tatt fisk ved kvart prøvetidspunkt, fisken var tint i 1 time før homogenisering, og alle prøvar vart gjort i duplikat. 10 gram av kvar prøve med det homogeniserte materialet vart frysetørka ved -70°C i 96 timar. Etter veging og frysing i -80°C fryser vart desse prøvane rehomogenisert i 3x15 sekund med ein magic bullet mincer (Homeland Housewares, LLC U.S.A) før protein og feittanalyse. Det vart då også tatt ut 2.0 gram til fukt og oskemåling.

2.7. Fuktighet og oske

Vekta av ei tom forbrenningskål vart veid og merka, og 2 gram av homogenisert fisk vart målt opp nøyaktig. Før det vart tørka i varmeskap på 105°C over natta. Frå varmeskapet vart det flytta til ein dessikator for nedkjøling og deretter vart det veid for å finne ut mengda vatn i prøven. Same prøve vart deretter sett i 540°C ovn over natta, ved denne temperaturen brenn alle makronæringstoffa opp, og det er hovudsakleg mineral/oske igjen.

Følgande formel for utregning vart nytta:

$$\text{Fukt (\%)} = \frac{(\text{oppvarma forbrenningskål} - \text{tom forbrenningskål}) \times 100}{\text{Start våt vekt av fisk}}$$

$$\text{Oskeinnehald (\%)} = \frac{(\text{Brent forbrenningskål} - \text{tom forbrenningskål}) \times 100}{\text{Prøve vekt}}$$

2.8. Råprotein

Proteininnhaldet vart funnet ved å bruke Kjeldahl metoden. Den nyttar nitrogeninnhaldet i prøvematerialet til å finne proteinmengda. Duplikat 0.5 grams prøvar vart tatt av veke 0, veke 3 og veke 6 materialet frå kvart kar. Det vart nytta homogenisert frysetørka materiale i prøvane, som vart rehomogenisert i 3x10 sekund. Prøvane vart veid inn i nitrogenfrie veieskåler og lagt over i reagensglas, før det vart tilsett 2 kjeltec tablettar som katalysator og 20ml konsentrert svovelsyre (98%). Dette vart varma opp til 420 grader celsius i 45 minutt på ein Kjeldal Digestor Varmeplate (Foss, Tyskland). Dette vart så nedkjølt til romtemperatur med avtrekk gjennom filter (vannbad med NaOH). Når det nådde romtemperatur vart 75ml destillert vatn tilsett i kvar prøve. Reagensrøyar vart så sett i den magasinmata Kjeltec 8420 (Foss, Tyskland) maskina, som automatisk titerer og kalkulerer proteinverdien ut frå nitrogenmengde, 6.25 vart nytta som omregningsfaktor. Følgande formel vart nytta:

$$\text{Protein (\%)} = [(P-B) \times M \times 14.01 \times 6.25 \times 100] / [1000g]$$

Der B er ml saltsyre brukt for blank prøve, og P er ml saltsyre brukt i prøven. M er molar vekt av saltsyre. G er gram med prøve.

$$\text{Protein (\%)} \text{ (våt basis)} = (\text{Protein \% (tørrstoff)} * \text{tørrstoff innhald \%}) / 100$$

2.9. Råfeitt

Feitt vart målt med etyl acetat ekstraksjon. Frå kvart prøvepunkt vart 1.0 gram av frysetørka re-homogenisert heilfisk prøve veid inn i veieskip. 20 gram natrium sulfat vart tilsett og miksa inn. Så vart 50ml etyl acetat tilsett i glaset, lok vart skrudd på og glaset rista godt. Deretter vart det sett i 50minutt på eit miksebord for å sikre at alt feittet vart blanda inn i løysemiddelet. Så vart det tatt ut 20ml av løysinga som vart overført til eit forhandsveid glasbeholdar. Deretter vart denne glasbeholdaren satt til fordampning i avtrekk over eit vassbad (kokande vatn) i 20min, før den vart satt i ovn med 105°C i 15min for restfordampning og flytta over i desicator for nedkjøling. Vekta vart deretter veid av glasbeholdaren og råfeittet vart rekna ut med følgande formel:

$$\text{Feitt i \%} = [10300 \times \text{feitt innhald (g)}] / [40 - 2.17 \times \text{feitt innhald (g)} \times \text{prøvevekt (g)}]$$

2.10. *Feittsyreanalyse*

For analysen til feittsyre så måtte det ekstrakterast feitt. Dette vart gjort med chloroformekstraksjon. Først vart 50mg av homogenisert frysetørka materiale frå 6 fiskssamleprøve av heilfisk veid opp i veieskip og overført til reagensrøyr. Det vart tatt 2 samleprøvar per gruppe. Når ein batch med 12 reagensrøyr var klare så vart ekstraksjonsprosessen starta, framgangsmåten er som beskrive av Bligh and Dyer (1959) for ekstraksjon av lipid og hydrolysen vart utført etter beskriving av Metcalfe et al.(1966). Prøvane vart gjort i duplikat, så det vart tatt totalt 24 prøvar av heilfisk, 2 frå kvar gruppe, diverre gjekk det tapt ein prøve frå veke 0 prøvane, og eine prøven frå veke 6 100% substitusjonsgruppa, så desse prøvane vart ikkje tatt i duplikat, illustrert i tabell med mangel på standard feil. I kvart reagensrøyr vart det tilført 0,8ml destillert vatn, 2.0 ml metanol og 1.0ml chloroform med pipette. Dette vart homogenisert med ultralyd, i eit minutt mens reagensrøyrret vart avkjølt i is. Før det vart tilført 1.0 ml chloroform, og homogenisert i 20sekund mens reagensrøyrret vart hold over is. Så vart det tilsett 1.0 ml destillert vatn, før alle 12 prøvane vart sentrifugert i 10minutt på 4000rpm ved 4°C. Etter sentrifugering vart 0.5ml av det nedre laget som innehaldt feitt og chloroform overført til kimax glass, så vart løysemiddelet fordampa med nitrogengass i ved 40°C i ein Thermo Scientific reacti-therm I #TS-18822 heating module, Neste steg er hydrolysering, etter fullført fordamping av løysemiddelet var det berre feitt igjen i kimax glasset, så starta prosessen for hydrolyse av lipiden. Det vart tilført 1.0ml av 0.5M NaOH-metanol i til den tørre prøven. Det vart satt kork på glassa, så vart dei varma ved 100°C i 15minutt, så nedkjølt på is. Deretter vart det tilført 2.0ml, 12% BF₃-metanol, og satt på kork for så å varme i 5minutt ved 100°C . Deretter vart det satt på is for kjøling igjen, og 1.0ml hexane vart tilført den nedkjølte prøven. Det vart så varma i eit minutt ved 100°C før ny kjøling. Etter dette vart det tilsett 3.0ml metta løysing med NaCl i destillert vatn før prøven vart rista for hand, og deretter tilsett 1.0ml hexane i 2 omganger med risting av prøveglasset mellom omgangane. Når saltvatnet hadde sige til bunns, så vart 0.5ml av hexan laget (det øvste laget) overført til ein forhandsveid glassbeholder. Denne vart så plassert på ein varmekolbe for fordampning av løysemiddel før den vart veid på ei Mettler Toledo UMX2 vekt med 0.1micrograms nøyaktighet for å finne konsentrasjon av feittsyre. Når prøvane var ferdig preparert vart alle prøvane frosne ved -80°C. Gas kromatografien vart utført med ein Scion 436-GC (Agilent Technologies, USA) og referansen som vart nytta som standard var ein (Fame mix2, Absolute standards, Inc., USA).

Feittsyrene vart målt med topp integrasjon og uttrykt som ein prosent av faktisk dekkareal i forhold til totalt feittsyreareal. Med å bruka programvara Compass CDS Bruker Co-operasjon chromatography data system, utvikla av (Scion Instruments, UK). Dataen vart så presentert ved hjelp av Microsoft Excel.

2.11. *Statistisk analyse*

Statistisk analyse vart i hovudsak gjort med Sigmaplot 14. Alle rådata vart testa for normalitetsfordeling med Shapiro Wilk's test. Vidare vart det kjørt ein Brown Forsythe varianselikehetstest.

En einvegs Anova analyse vart brukt for å sjå om det var signifikante forskjellar mellom gruppene. Om det vart oppdaga signifikans ($P < 0.05$), vart det kjørt fleire parvise samanlikningar for å finne signifikansen mellom dei ulike gruppene med ein Tukey Test. Dersom normaliteten og homogenitet av variansen ikkje var akseptabelt vart det tatt Kruskal-Wallis test i staden for Tukey Test.

Histologi dataen der det var to datagrupper (Kontroll og 100% substitusjon) som vart samanlikna vart det brukt ein tosidig t-test etter normalitetstesting. Dette vart utført med Microsoft Excel (2017).

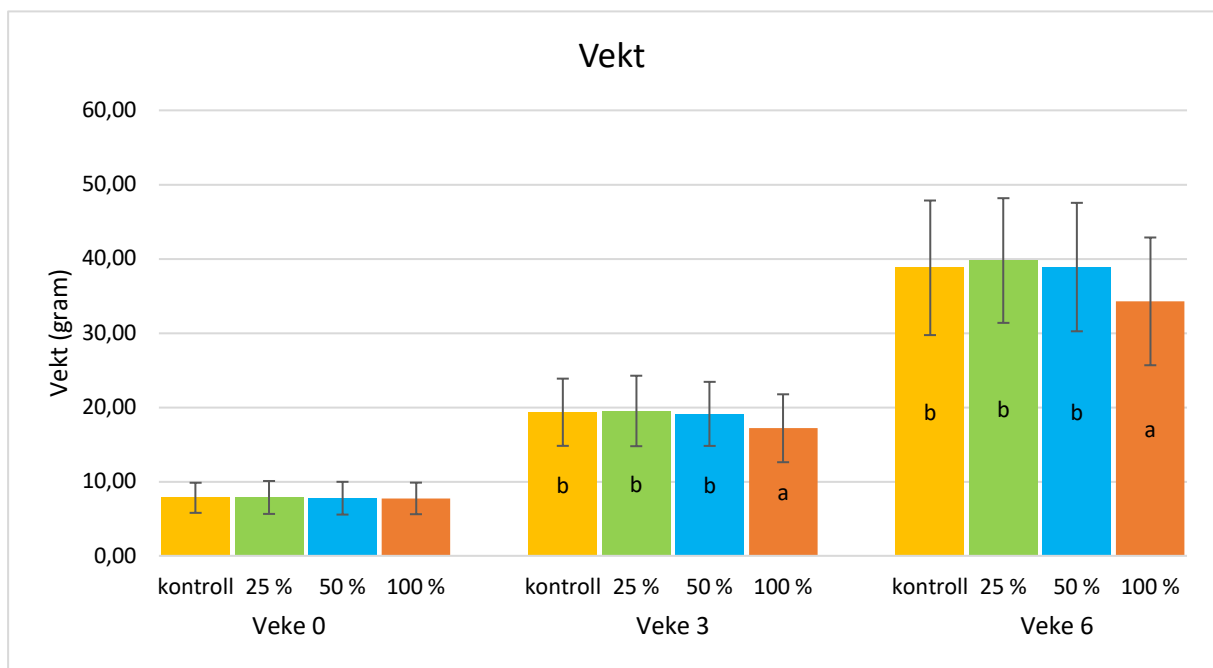
Signifikansnivå (α) på 0.05 vart nytta for alle testar. Grafar, tabellar og gjennomsnitt og standardavvik vart utarbeida med Microsoft Excel (2017).

3. Resultat

3.1. Vekt heilfisk

Startvekta til rognkjeksken i forsøket var lik, men varierte frå $7.73\text{g} \pm 2.13\text{g}$ – $7.86\text{g} \pm 2.22\text{g}$ (snitt \pm SD) mellom diettar ved veke 0 (Fig. 11). Dette auka til $38.79\text{g} \pm 9.06\text{g}$, $39.77\text{g} \pm 8.40\text{g}$, $38.89\text{g} \pm 8.65\text{g}$, $34.27\text{g} \pm 8.60\text{g}$ ved sluttmåling for henholdsvis kontrollgruppa, 25% RO, 50% RO og 100% RO gruppa. Dette tilsvara ein auke i vekt på nesten 5 gonger gjennom 6 veker. Gruppa med 100% RO hadde signifikant lågare vekt både ved veke 3 og 6.

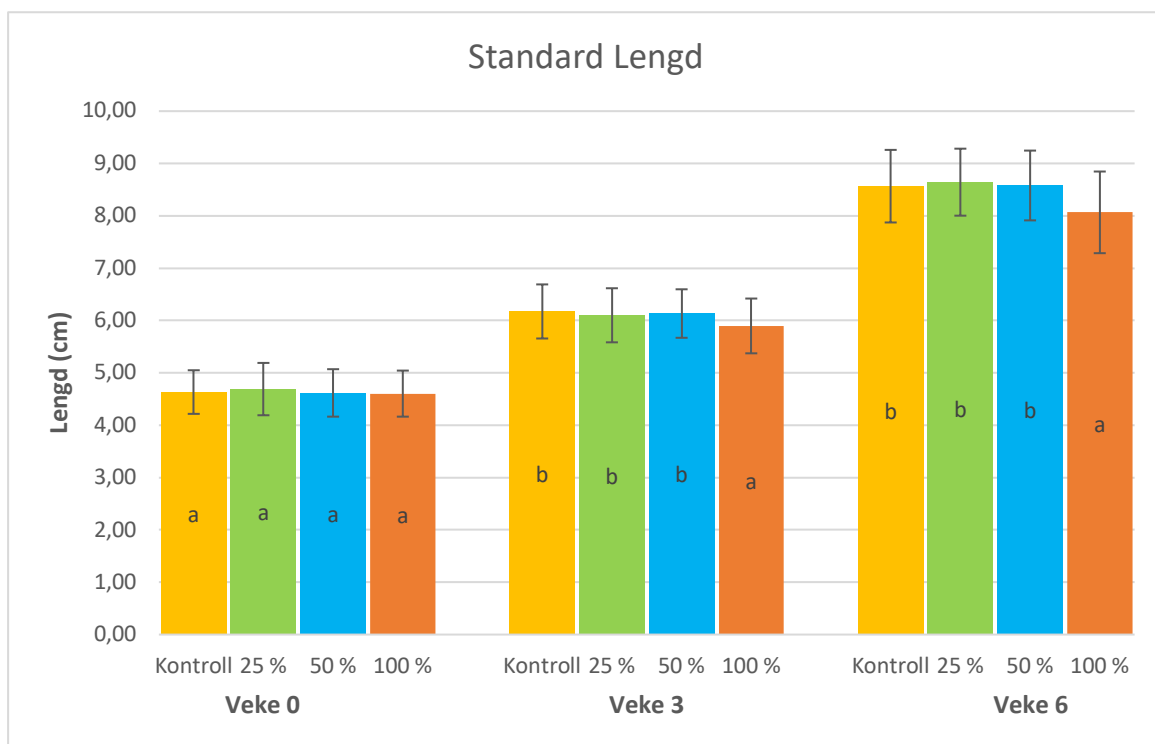
Biometrisk data for alle prøvar ligg som vedlegg 1.



Figur 11 : Heilfisk vekt (gjennomsnitt \pm SD) av rognkjeks fôra med ulike nivå av planteolja (rapsoolja). Gul = kontroll, grøn = 25% RO, blå = 50% RO og oransje= 100% RO. Ulike bokstavar i grafen indikerer signifikante forskjellar ($P < 0.05$). $N=40$ /gruppe

3.2. Standard lengde

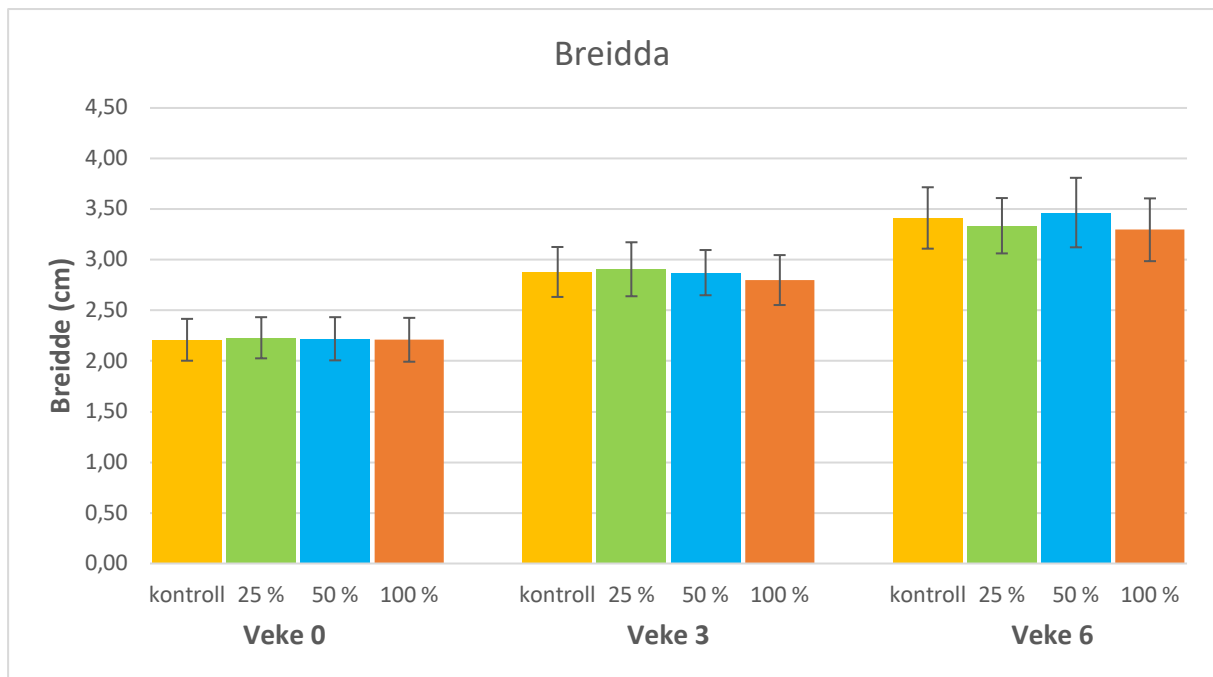
Standardlengda til rognkjeksken i forsøket varierte frå 4.60cm ± 0.44cm – 4.69cm ± 0.50cm (snitt ± SD) for alle diettar ved veke 0. Dette auka til 8.57 ± 0.69cm, 8.64cm ± 0.64cm, 8.58cm ± 0.67cm, 8.07cm ± 0.78cm ved sluttmåling for henholdsvis kontrollgruppa, 25% RO, 50% RO og 100% RO gruppa (figur 12). Denne auken er ikkje tilsynelatande veldig høg, men på grunn av rognkjeksens k-faktor tilsvarar dette ei stor auke. Gruppa med 100% RO hadde signifikant kortare lengd enn resten av gruppene både ved veke 3 og veke 6.



Figur 12 : Standardlengde i cm (gjennomsnitt ± SD) av rognkjeks fôra med ulike nivå av planteolja (rapsolja). Gul = kontroll, grøn = 25% RO, blå = 50% RO og oransje = 100% RO., Ulike bokstavar i grafen indikerer signifikante forskjellar (P<0.05). N=40/gruppe

3.3. Breidda

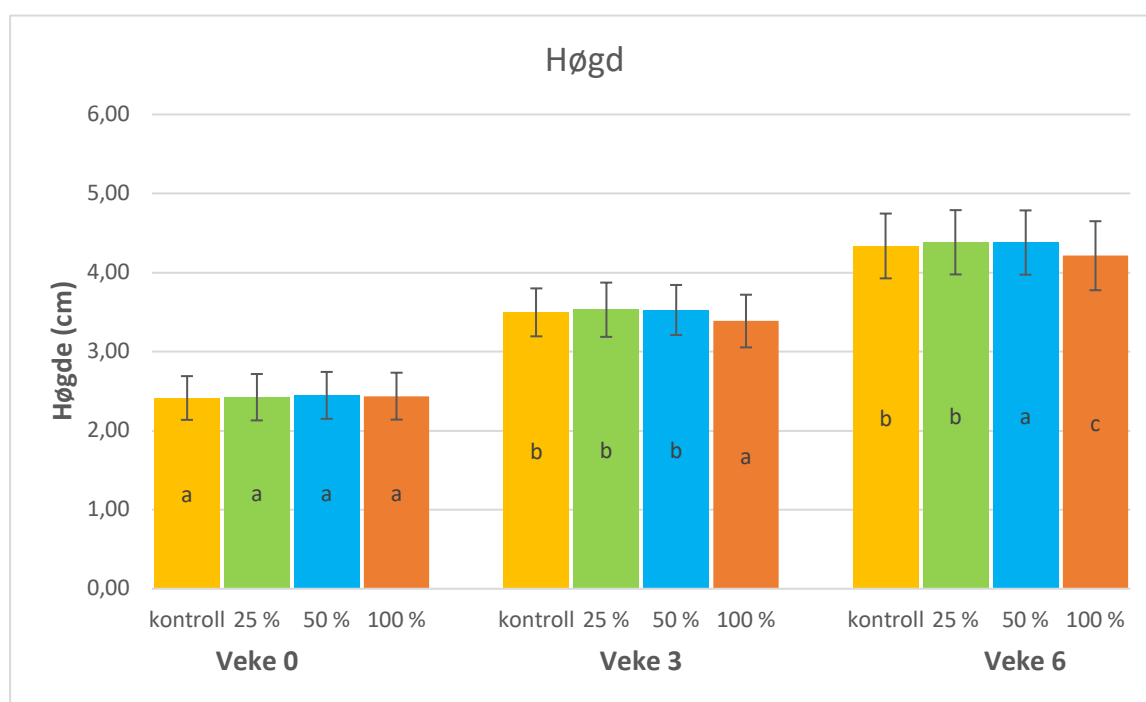
Startbreidda til rognkjeksens i forsøket varierte frå $2.21\text{cm} \pm 0.21\text{cm}$ – $2.23\text{cm} \pm 0.20\text{cm}$ (snitt \pm SD) for alle diettar ved veke 0. Dette auka til $3.41\text{cm} \pm 0.30\text{cm}$, $3.34\text{cm} \pm 0.27\text{cm}$, $3.47\text{cm} \pm 0.34\text{cm}$, $3.30\text{cm} \pm 0.31\text{cm}$ ved sluttmåling for henholdsvis kontrollgruppa, 25% RO, 50% RO og 100% RO gruppa (figur 13). Denne auken er ikkje tilsynelatande veldig stor, men på grunn av rognkjeksens form tilsvarar det ei ganske stor auke.



Figur 13 : Breidde i cm (gjennomsnitt \pm SD) av rognkjeks fôra med ulike nivå av planteolja (rapsolja). Gul = kontroll, grøn = 25% RO, blå = 50% RO og oransje = 100% RO., $P < 0.05$. $N = 40$ /gruppe

3.4. Høgd heilfisk

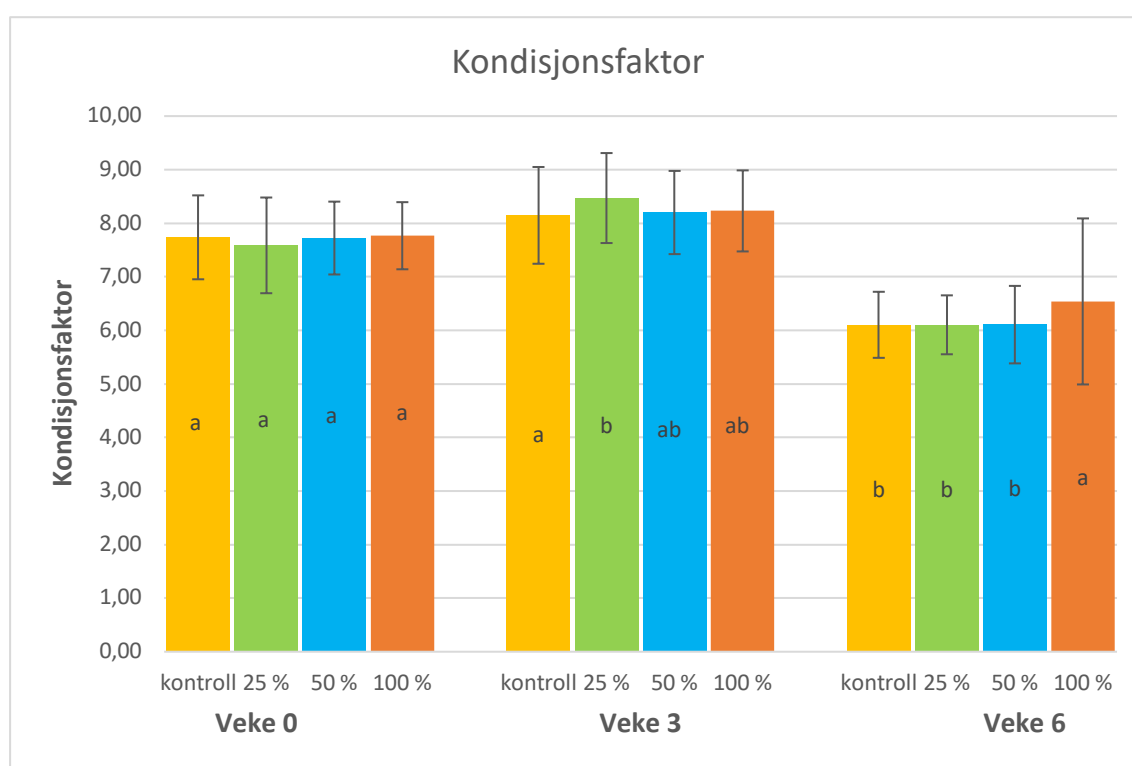
Høgda til rognkjeksen i forsøket var lik ved start og varierte frå 2.41cm ± 0.28cm – 2.45cm ± 0.30cm (snitt ± SD) for alle diettar ved veke 0. Dette auka til 4.34cm ± 0.41cm, 4.38cm ± 0.41cm, 4.38cm ± 0.41cm, 4.21cm ± 0.44cm ved sluttmåling for henholdsvis kontrollgruppa, 25% RO, 50% RO og 100% RO gruppa (figur 14). Gruppa med 100% RO var signifikant kortare enn resten av gruppene både ved veke 3. Ved veke 6 var det signifikante forskjellar mellom alle gruppene utanom mellom 25% RO og kontrollgruppa.



Figur 14 : Høgde i cm (gjennomsnitt ± SD) av rognkjeks føra med ulike nivå av planteolja (rapsolja). Gul = kontroll, grøn = 25% RO, blå = 50% RO og oransje = 100% RO. N=40, ulike bokstavar på grafen, indikerer dei signifikante forskjellar, P<0.05.

3.5. Kondisjonsfaktor

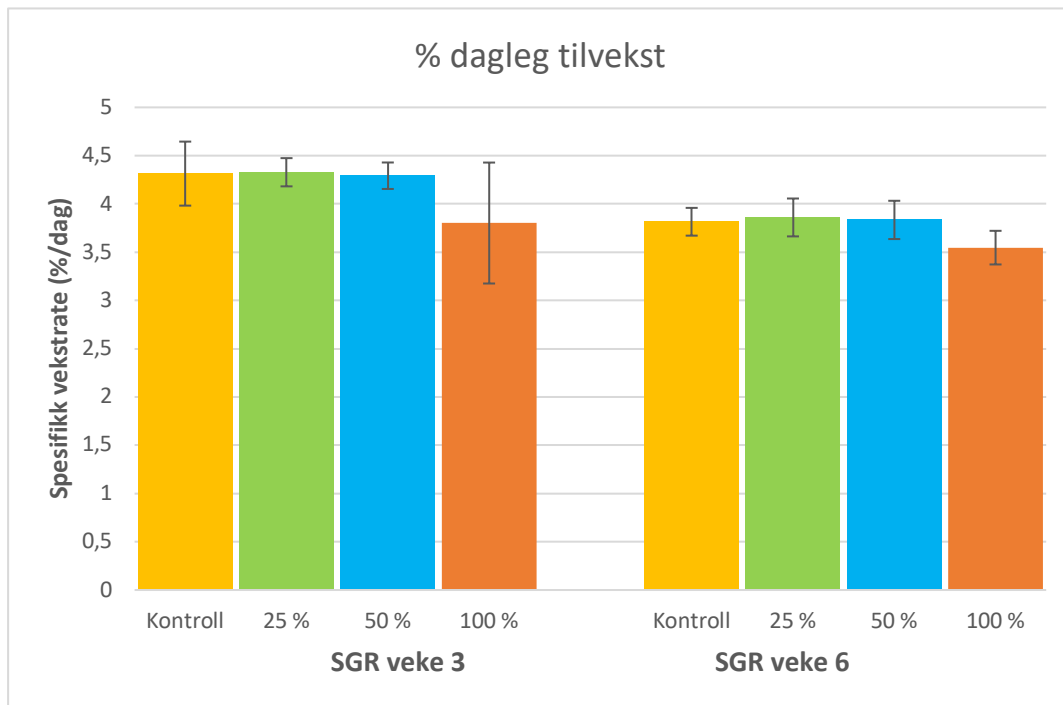
Kondisjonsfaktoren til rognkjeks i forsøket varierte frå 7.59 ± 0.89 – 7.77 ± 0.63 (snitt \pm SD) for alle diettar ved veke 0. Denne endra seg til 6.10 ± 0.62 , 6.10 ± 0.55 , 6.11 ± 0.72 , 6.54 ± 1.55 ved sluttmåling for henholdsvis kontrollgruppa, 25% RO, 50% RO og 100% RO gruppa (figur 15). K-faktoren auka først etter 3 veker, og 25% RO var på det høgaste med 8.47 ± 0.84 før den droppa til 6.10 ± 0.55 ved veke 6.



Figur 15 : K-faktor (gjennomsnitt \pm SD) av rognkjeks fôra med ulike nivå av planteolja (rapsolja). Gul = kontroll, grøn = 25% RO, blå = 50% RO og oransje = 100% RO. N=40, ulike bokstavar på grafen, indikerer dei signifikante forskjellar, $P < 0.05$.

3.6. % Dagleg tilvekst

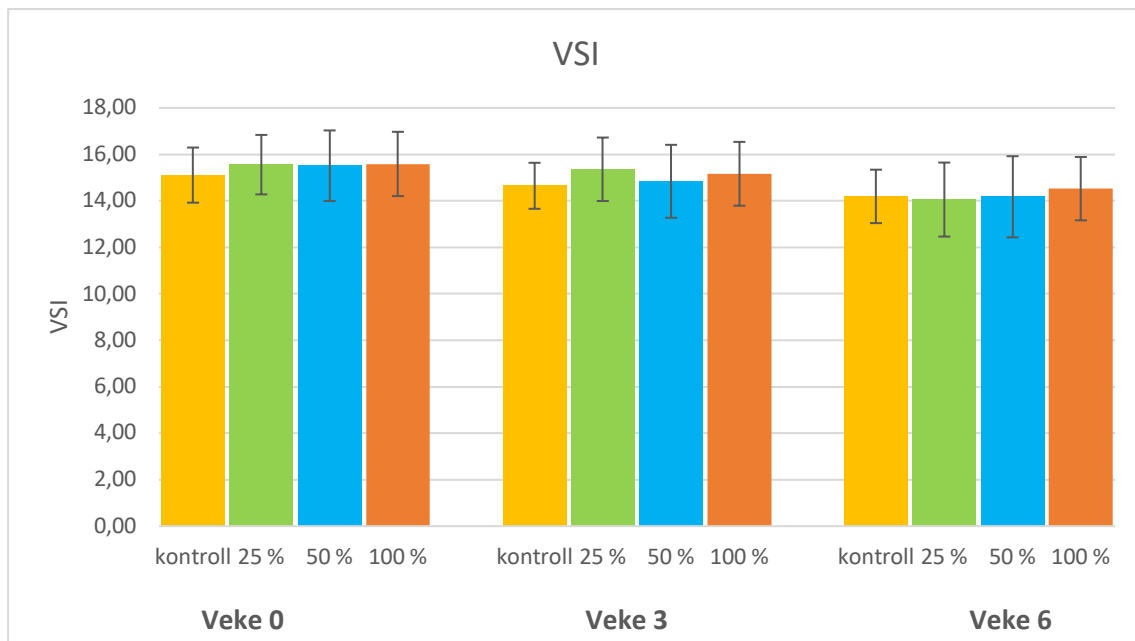
Vekstraten i prosent dagleg tilvekst (heretter – SGR) til rognkjeksken i forsøket varierte frå 3.80% ± 0.63% – 4.33% ± 0.15% (snitt ± SD) for alle diettar ved veke 3. Denne endra seg til 3.31% ± 0.14%, 3.39% ± 0.20%, 3.38% ± 0.20%, 3.29% ± 0.17% ved sluttmåling for henholdsvis kontrollgruppa, 25% RO, 50% RO og 100% RO gruppa (figur 16). Vekstraten til rognkjeksken gjekk ned utover i prosjektet, som er forventa etterkvart som fisken vert større. Dei første 3 vekene så kan ein sjå ein redusert SGR for 100% dietten, men standardavviket er og stort ettersom det var stor spreing i vekta på dei 3 triplikatane. I veke 0-6 er det jamnare vekstrate.



Figur 16 : SGR i % tilvekst per dag (gjennomsnitt ± SD) av rognkjeks fôra med ulike nivå av planteolja (rapsolja). Gul = kontroll, grøn = 25% RO, blå = 50% RO og oransje = 100% RO. N=3/gruppe , P<0.05

3.7. VSI indeks

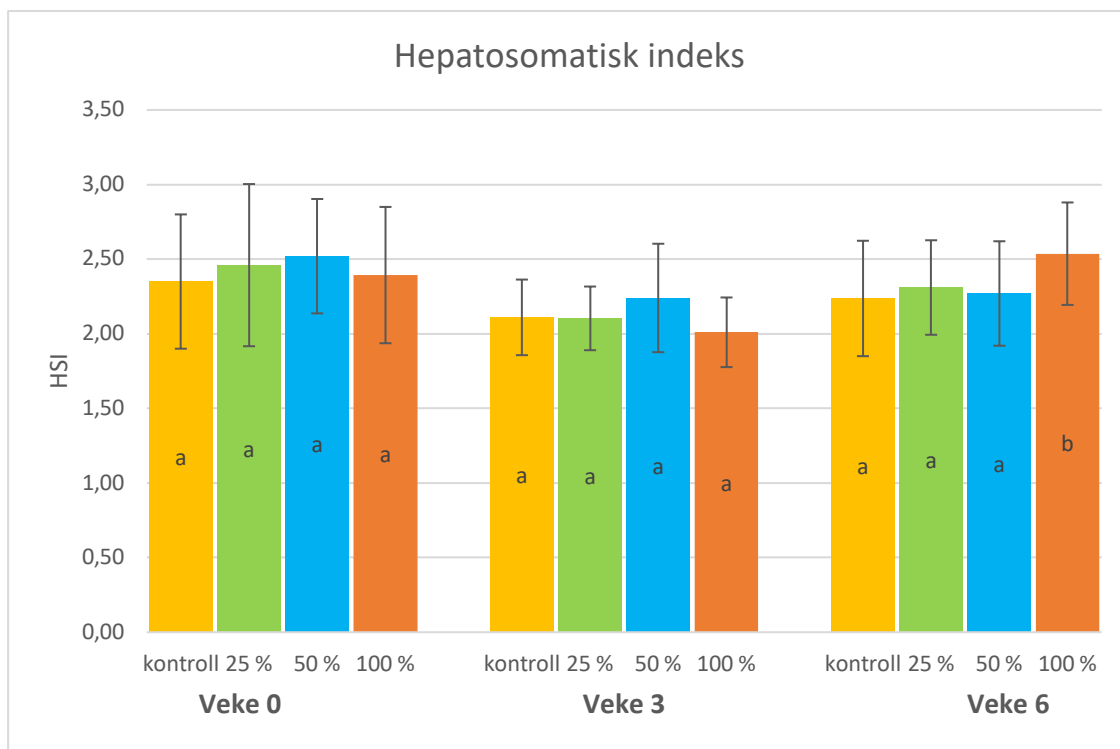
Den visera somatiske indeksen til rognkjeksken i forsøket varierte frå 15.11% ± 1.19% – 15.59% ± 1.38% (snitt ± SD) for alle diettar ved veke 0. Denne endra seg til 14.19% ± 1.15%, 14.06% ± 1.59%, 14.18% ± 1.75%, 14.53% ± 1.36% ved sluttmåling for henholdsvis kontrollgruppa, 25% RO, 50% RO og 100% RO gruppa (figur 17). VSI holdt seg relativt uendra gjennom heile forsøket.



Figur 17 : Visera somatisk indeks (gjennomsnitt ± SD) av rognkjeks fôra med ulike nivå av planteolja (rapsolja). Gul = kontroll, grøn = 25% RO, blå = 50% RO og oransje = 100% RO. N=10, P<0.05.

3.8. Hepatosomatisk indeks

Den hepatosomatiske indeksen til rognkjeksene i forsøket varierte frå $2.35\% \pm 0.45\%$ – $2.52\% \pm 0.38\%$ (snitt \pm SD) for alle diettar ved veke 0. Denne endra seg til $2.24\% \pm 0.39\%$, $2.31\% \pm 0.32\%$, $2.27\% \pm 0.35\%$, $2.54\% \pm 0.34\%$ ved sluttmåling for henholdsvis kontrollgruppa, 25% RO, 50% RO og 100% RO gruppa (figur 18). HSI for alle grupper vart redusert ved veke 3 i forhold til veke 0, det auka så litt igjen for veke 6. Det var signifikant høgare HSI for 100% RO gruppa i veke 6 enn dei tre andre gruppene i veke 6.



Figur 18 : hepatosomatisk indeks (gjennomsnitt \pm SD) av rognkjeks fôra med ulike nivå av planteolja (rapsolja). Gul = kontroll, grøn = 25% RO, blå = 50% RO og oransje = 100% RO. N=10, ulike bokstavar på grafen, indikerer dei signifikante forskjellar, $P < 0.05$.

3.9. Tjukkelse lamina propria og lengde tarmfold

Tjukkelse på lamina propria ved midttarmen, framre tarm og blindsekkane til rognkjeksken i forsøket varierte ved dei forskjellige områda, men ikkje signifikant (Tabell 4). Midttarmen var $164.76\mu\text{m} \pm 52.29\mu\text{m}$ og $171.56\mu\text{m} \pm 46.57\mu\text{m}$ for henholdsvis kontroll og 100% gruppa (snitt \pm SD). Fremre tarm varierte frå $147.20\mu\text{m} \pm 27.66\mu\text{m}$ og $135.85\mu\text{m} \pm 34.25\mu\text{m}$ for henholdsvis kontroll og 100% gruppa (snitt \pm SD). Blindsekkane varierte frå $67.80\mu\text{m} \pm 16.50\mu\text{m}$ og $65.80\mu\text{m} \pm 14.63\mu\text{m}$ for henholdsvis kontroll og 100% gruppa (snitt \pm SD). Lengda på tarmfoldene for midttarmen, framre tarm og blindsekkane var lik innan dei ulike tarmsegmenta etter føring (Tabell 4). For midttarmen var verdiane henholdsvis $484.39\mu\text{m} \pm 95.16\mu\text{m}$ og $470.82\mu\text{m} \pm 97.35\mu\text{m}$ for kontroll og 100% gruppa (snitt \pm SD). Proksimal tarm varierte frå $502.22\mu\text{m} \pm 73.47\mu\text{m}$ og $488.31\mu\text{m} \pm 142.54\mu\text{m}$ for henholdsvis kontroll og 100% gruppa (snitt \pm SD). Blindsekkane varierte frå $327.1\mu\text{m} \pm 84.93\mu\text{m}$ og $298.58\mu\text{m} \pm 64.53\mu\text{m}$ for henholdsvis kontroll og 100% gruppa (snitt \pm SD).

Tabell 4: Viser tjukkelsen av lamina propria som vart definert som det muskelholdige ytre lag av tarmen opp mot det underliggende slimlaget. Lengda på tarmfoldar vart definert frå overgangen av lamina propria til enden av tarmfolden målt i mikrometer \pm SD.

	Kontroll	100 % Raps	P - verdi
Lamina propria			
Pylorus Caeca	$67.1\mu\text{m} \pm 16.5\mu\text{m}$	$65.8\mu\text{m} \pm 14.6\mu\text{m}$	0.71
Fremre tarm	$147.2\mu\text{m} \pm 27.6\mu\text{m}$	$135.8\mu\text{m} \pm 34.3\mu\text{m}$	0.17
Midttarm	$164.8\mu\text{m} \pm 52.3\mu\text{m}$	$171.5\mu\text{m} \pm 46.5\mu\text{m}$	0.57
Tarmfold lengde			
Pylorus Caeca	$327.1\mu\text{m} \pm 84.9\mu\text{m}$	$298.6\mu\text{m} \pm 64.4\mu\text{m}$	0.15
Fremre tarm	$502.2\mu\text{m} \pm 73.5\mu\text{m}$	$488.3\mu\text{m} \pm 142.5\mu\text{m}$	0.74
Midttarm	$493.4\mu\text{m} \pm 94.3\mu\text{m}$	$470.8\mu\text{m} \pm 97.3\mu\text{m}$	0.59

3.10. Måling av slimceller

Målingane av slimceller i dei ulike veva varierte tarmsegmenta imellom, der det var helst færre slimceller lengst framme i pylorus caeca, kor talet slimceller auka gradvis lengre bakover i tarmen. Det var ikkje nokon verdiar med signifikant P-verdi ($p < 0.05$), men som ein kan sjå i tabell 5 er det tendensar til lågare verdiar for 100% rapsolje dietten.

Tabell 5: Måling av slimceller i pylorus caeca, fremre tarm og midttarm, kontrollgruppa og 100% rapsoljegruppa. Måling i prosent dekket av slimceller, tal slimceller per 50 000 μm^2 område, og snittstørrelse på slimceller i μm^2 .

Måling	Kontroll	100% Raps	P-verdi
Pylorus caeca - N = 5			
Slimceller i %	1.60% \pm 0.73%	1.43% \pm 0.53%	0.14
Tal slimceller	11.54 \pm 3.34	10.19 \pm 2.03	0.13
Størrelse	81.81 μm^2 \pm 27.08 μm^2	79.70 μm^2 \pm 28.73 μm^2	0.20
Fremre tarm - N = 5			
Slimceller i %	2.81% \pm 1.06%	2.20% \pm 0.78%	0.15
Tal slimceller	18.60 \pm 6.85	16.17 \pm 5.67	0.36
Størrelse	85.39 μm^2 \pm 30.9 μm^2	77.38 μm^2 \pm 31.0 μm^2	0.14
Midttarm - N = 5			
Slimceller i %	2.61% \pm 1.04%	2.28% \pm 0.75%	0.09
Tal slimceller	18.87 \pm 7.22	19.72 \pm 6.48	0.14
Størrelse	75.03 μm^2 \pm 22.01 μm^2	64.83 μm^2 \pm 23.45 μm^2	0.23

3.11. *Proksimal samansetning*

Tabell 6 viser heilfisk gjennomsnitt verdier \pm SD, det er verdier for tørrstoff, veskeinnhald, råprotein, råfeitt og oske.

Tørrstoff (gjennomsnitt \pm SD) innhald var i området 12.83 ± 0.13 til 13.13 ± 0.17 ved veke 0. Det var ikkje store endringar til veke 3, men ved veke 6 vart det auka tørrstoff for kontrollgruppa, 25% RO og 50% RO, dietten med 100% RO hadde lågare tørrstoff verdi enn dei andre ($P = < 0.001$, Tabell 6). Tukey Test gav ein signifikans på $P < 0.001$ for 100% vs. kontroll, $P = 0.006$ for 100% vs. 50%, og $P = 0.023$ for 100% vs. 25%.

Vassinnhaldet i gjekk ned i forsøket, som i tørrstoffet så var endringa størst frå veke 3 til veke 6. Her var også 100% erstatningsdietten den med størst avvik, og (tabell 6, $P = < 0.001$) Tukey Test gav ein signifikans på $P < 0.001$ for 100% vs. kontroll, $P = 0.006$ for 100% RO vs. 50% RO, og $P = 0.023$ for 100% RO vs. 25% RO.

Dei første tre vekene av forsøket gjekk råprotein verdiane ned for samtlege grupper. Før det steig til forbi startverdiane ved veke 6, dette gjaldt alle diettane utanom den med fullstendig substitusjon av fiskeolja. ($P = < 0.001$, Tabell 6). Som for dei foregåande parametera var det berre signifikant forskjell ($P < 0.05$) i veke 6, mellom 100% RO og dei tre andre diettane. Tukey Test gav ein signifikans på $P < 0.001$ for 100% RO vs. kontroll, $P = 0.010$ for 25% RO vs. 100% RO, og $P = 0.013$ for 100% RO vs. 50% RO.

Råfeitt hadde ingen signifikante ulikheit, men det var låge P-verdier på alle tre målingsperiodane sjølv om dei ikkje var under 0.05. Det var aukande feittmengde for alle gruppene utover i perioden, det gjekk frå eit snitt for alle grupper på $1.92\% \pm 0.03\%$ i veke 0, $2.10\% \pm 0.04\%$ i veke 3 og til $2.61\% \pm 0.06\%$ i veke 6. Krafta til ANOVA testen var under ønska nivå, dette medfører at P-verdien må tolkast forsiktig.

Oskeinnholdet i fisken gjekk opp frå veke 0 til veke 3, for så å gå litt ned igjen til veke 6. I veke 0 var det $1.51\% \pm 0.06\%$ det gjekk opp til $1.63\% \pm 0.02\%$ i veke 3, for så å gå ned til $1.52\% \pm 0.02\%$, som eit snitt for alle gruppene. Tukey test fann signifikant forskjell på 25% RO gruppa mot 50% RO gruppa $P = 0.045$.

Tabell 6: Proksimal samansetning av heilfisk rognkjeks (gjennomsnitt \pm SD) fra diettar med ulik feittkjelde. N = 6. Om det er bokstavar indikerer dei signifikant forskjell, P < 0.05. Ulike bokstavar indikerer ulike statistiske testar.

Parameter	Tidspunkt	Erstatta feitt innhald i %				P-verdi
	Veke	Kontroll	25% RO	50% RO	100% RO	
Tørrstoff (%)	0	12.89 \pm 0.08	12.83 \pm 0.13	12.92 \pm 0.17	13.14 \pm 0.17	0.457
	3	12.84 \pm 0.07	12.96 \pm 0.10	12.86 \pm 0.06	12.72 \pm 0.09	0.226
	6	13.84 \pm 0.11a	13.65 \pm 0.17a	13.73 \pm 0.22a	13.27 \pm 0.28b	P = <0.001
Vassinnhald (%)	0	87.11 \pm 0.08	87.17 \pm 0.13	87.08 \pm 0.17	86.86 \pm 0.17	0.457
	3	87.16 \pm 0.07	87.03 \pm 0.09	87.14 \pm 0.06	87.28 \pm 0.09	0.226
	6	86.15 \pm 0.05a	86.35 \pm 0.07a	86.27 \pm 0.09a	86.73 \pm 0.11b	P = <0.001
Rproteिन (%) av vt prve	0	8.33 \pm 0.06	8.30 \pm 0.08	8.33 \pm 0.11	8.54 \pm 0.13	0.36
	3	8.14 \pm 0.06	8.18 \pm 0.05	8.12 \pm 0.05	7.96 \pm 0.04	0.064
	6	8.70 \pm 0.05a	8.50 \pm 0.07a	8.48 \pm 0.07a	8.17 \pm 0.07b	P = <0.001
Råfeitt (%) av vt prve	0	1.92 \pm 0.04	1.90 \pm 0.04	1.88 \pm 0.03	2.00 \pm 0.03	0.085
	3	2.08 \pm 0.02	2.18 \pm 0.06	2.11 \pm 0.02	2.01 \pm 0.04	0.067
	6	2.56 \pm 0.10	2.57 \pm 0.12	2.75 \pm 0.06	2.55 \pm 0.26	0.121
Oskeinnhald (%) av våt prøve	0	1.61 \pm 0.04	1.50 \pm 0.09	1.49 \pm 0.05	1.45 \pm 0.05	0.35
	3	1.64 \pm 0.10	1.61 \pm 0.06	1.65 \pm 0.02	1.64 \pm 0.03	0.558
	6	1.53 \pm 0.02a	1.55 \pm 0.03a	1.45 \pm 0.03b	1.54 \pm 0.02a	P = <0.001

3.12. *Feittsyresamansetning*

Feittsyresamansetninga i dei ulike diettane i fôrforsøket er illustrert i tabell 7. Ettersom det er tatt to prøvar per gruppe (samleprøvar) er det ikkje kjørt nokon statiske testar for å finne signifikans, då desse ville vore usikre. Men det er tydelege endringar der mengda n-3 feittsyre går ned med aukande inklusjon av rapsolja, det skjer samtidig som mengda n-6 og einumetta feittsyrer går opp. Ved veke 6 ser ein ei endring i n-6 feittsyrer som går frå 21.5% med 100% rapsolje til 10.6% med kontrolldietten beståande av 100% fiskeolja. N-3 innhaldet gjekk frå 8% - 26% på same tida. EPA innhaldet i feittet gjekk frå 10.7% for kontrollfisken i veke 6 til 3.4% for fisken på 100% RO diett. Endringa i DHA var tilsvarande, rognkjeksen på kontrolldiett hadde 13% DHA i veke 6, mens 100% RO dietten berre hadde 4.6%. Endringa var mindre ved veke 3. Største endringa som skjer er i forholdet n3/n6 feittsyrer, det går frå 2.46 – 0.37, endringa vert så stor ettersom det vert mindre n-3 samtidig som n-6 innhaldet stig.

Tabell 7: Feittsyresamansetning i heilfisk, gjennomsnitt \pm SD

	Veke 0 Samla	Veke 3 Kontroll	Veke 3 25% RO	Veke 3 50% RO	Veke 3 100% RO	Veke 6 Kontroll	Veke 6 25% RO	Veke 6 50% RO	Veke 6 100% RO
C14:0	3.07 \pm 0.06	3.7 \pm 0.02	3.4 \pm 0.06	2.7 \pm 0.01	1.7 \pm 0.02	3.9 \pm 0.02	3.2 \pm 0.03	2.5 \pm 0.05	1.28
C16:0	15.6 \pm 0.38	16.7 \pm 0.19	15.7 \pm 0.2	13.4 \pm 0.07	10.4 \pm 0.04	16.0 \pm 0.1	14.1 \pm 0.06	12.4 \pm 0.2	8.99
C18:0	4.8 \pm 0.05	5.0 \pm 0.09	4.7 \pm 0.07	4.4 \pm 0.05	3.7 \pm 0.07	4.5 \pm 0.04	4.3 \pm 0.04	4.0 \pm 0.13	3.45
C19:0	2.12 \pm 0.06	1.9 \pm 0.0	2.7 \pm 0.0	3.4 \pm 0.0	5.0 \pm 0.0	1.9 \pm 0.01	3.0 \pm 0.05	3.96	5.53
C22:0		1.7 \pm 0.02	0.7 \pm 0.1	1.1 \pm 0.02	0	1.9 \pm 0.0	1.5 \pm 0.02	1.2 \pm 0.02	0
Sum metta	25.6 \pm 0.9	29.0 \pm 1.9	27.1 \pm 1.7	25.1 \pm 1.4	20.8 \pm 1.2	28.2 \pm 1.8	26.2 \pm 1.5	24.1 \pm 1.3	19.3 \pm 1.1
C16:1	4.4 \pm 0.1	5.2 \pm 0.03	4.5 \pm 0.08	3.5 \pm 0.01	2.2 \pm 0.01	5.0 \pm 0.03	4.1 \pm 0.04	3.1 \pm 0.05	1.64
C18:1n-9	5.2 \pm 0.03	5.6 \pm 0.05	5.3 \pm 0.09	5.1 \pm 0.01	4.4 \pm 0.02	5.3 \pm 0.03	4.9 \pm 0.04	4.6 \pm 0.05	4.15
C18:1n-11	20.6 \pm 0.11	21.2 \pm 0.1	25.7 \pm 0.17	32.3 \pm 0.03	39.4 \pm 0.06	19.9 \pm 0.01	26.8 \pm 0.1	34.1 \pm 0.2	43.63
C20:1n-9	1.5 \pm 0.03	2.5 \pm 0.03	2.1 \pm 0.3	2.1 \pm 0.0	1.8 \pm 0.2	2.8 \pm 0.01	2.5 \pm 0.01	2.3 \pm 0.03	1.77
Sum einumetta	31.8 \pm 1.2	34.6 \pm 2.7	37.6 \pm 3.6	42.9 \pm 4.7	47.8 \pm 6.0	33.0 \pm 2.6	38.4 \pm 3.7	44.1 \pm 5.0	51.2 \pm 6.7
C18:2n-6	14.2 \pm 0.3	11.8 \pm 0.01	14.9 \pm 0.1	16.0 \pm 0.03	20.6 \pm 0.2	10.6 \pm 0.07	13.7 \pm 0.02	16.1 \pm 0.07	21.48
C22:4n-6	0.2 \pm 0.04	0	0	0	0	0	0	0	0
Sum n-6	14.6 \pm 4.0	11.8 \pm 3.4	14.9 \pm 4.3	16.0 \pm 4.6	20.6 \pm 5.9	10.6 \pm 3.0	13.7 \pm 3.9	16.1 \pm 4.6	21.5 \pm 6.2
C20:3n-3	1.1 \pm 0.4	1.1 \pm 0.7	0	0	0	1.0 \pm 0.01	0	0	0
C20:5n-3	10.1 \pm 0.2	9.6 \pm 0.01	8.7 \pm 0.17	6.6 \pm 0.07	4.6 \pm 0.02	10.7 \pm 0.0	8.6 \pm 0.07	6.4 \pm 0.12	3.43
C22:5n-3	1.4 \pm 0.3	1.2 \pm 0.01	0	0	0	1.3 \pm 0.01	1.0 \pm 0.0	0.8 \pm 0.0	0
C22:6n-3	13.8 \pm 0.3	11.4 \pm 0.17	10.2 \pm 0.2	8.2 \pm 0.06	6.1 \pm 0.07	13.0 \pm 0.16	10.3 \pm 0.04	7.7 \pm 0.23	4.6
Sum n-3	26.3 \pm 2.0	22.7 \pm 1.8	18.9 \pm 1.8	14.7 \pm 1.4	10.8 \pm 1.0	26.0 \pm 2.0	20.0 \pm 1.7	14.9 \pm 1.3	8.0 \pm 0.8
N-3 / N-6	1.83 \pm 0.02	1.92 \pm 0.13	1.27 \pm 0.00	0.92 \pm 0.00	0.52 \pm 0.03	2.46 \pm 0.01	1.45 \pm 0.00	0.92 \pm 0.02	0.37

4. Diskusjon

Erstatning av føringrediensar er ikkje ein ny strategi. På grunn av den begrensa mengda og prisen på fiskemjøl og fiskeolje har ein erstatta store delar av dei marine råvarene i fiskefôr til ulike artar (Gatlin et al. 2007; Hardy, 2010). I takt med denne utviklinga er det gjort mange studiar på slik erstatning. Diverre er det ikkje gjort utstrakt forskning på ernæring i rognkjeks, då mesteparten av forskninga har vore retta mot rognkjeks som avlusingsmiddel. Difor vert resultata i forsøket forsøkt diskutert opp mot anna relevant litteratur. Rapsolje er ein av dei mest tilgjengelege vegetabilske oljene, med ein årleg produksjon på 25 millionar tonn, mot omtrent 1 million tonn fiskeolje årleg (FAO, 2018). Rapsolja har moderat nivå av omega n-6 fettsyrer og det inneheld ALA (Bell et al. 2003), som gjer den godt egna til delvis substitusjon i fiskefôr (Bell et al. 2003).

4.1. Vekst

Veksten i forsøket vårt var god for alle gruppene, sjølv om den var noko lågare for gruppa som fekk 100% RO allereie 3 veker inn i forsøket ($P < 0.05$). I forsøket hadde rognkjeksen som fekk både 25% RO og 50% RO god tilvekst, mens fisken som fekk 100% RO hadde signifikant lågare vekt samanlikna med kontrollgruppa (34.27gram vs 38.79gram ved veke 6). Dette er i tråd med Hixons et al. (2014) sitt forsøk der torsk (*Gadus morhua*) fekk signifikant lågare vekt når den vart fôra 100% vegetabilsk olja. I sama forsøket av Hixons et al. (2014) var det to laksefiskar (atlanterhavslaks og regnbogeaure) desse artane har høgare lipid utnyttingskapasitet enn mager fisk td. torsk og rognkjeks som har ikkje sama evna til å ta opp lipid (Turchini et al. 2009). Ettersom mengda fôr forbrukt ikkje er overvåka i forsøket, kan det ha vore dårlegare smakelighet på fôret med 100% rapsolja. I eit forsøk på smakelighet av Geurden et al. (2005) fann dei at regnbogeaure kan smaka forskjell på fôr med ulik feittkjelde, og den føretrakk fôr med fiskolja framfor fôr med rapsolja, soyaolja og linolja i den rekkefølga.

Vekstraten i forsøket gjekk ned utover i forsøket, og det var lågare SGR for 100% substitusjons rapsolje dietten, men den var ikkje signifikant. Det er ikkje uvanleg at SGR går ned etterkvart som fisken veks, Nytrø et al. (2014) fann og at vekstraten på rognkjeks går ned

med aukande størrelse. Nytrø et al. (2014) observerte ein vekstrate på 3% ved 7°C og 20grams fisk, som er samanliknbart med vårt forsøk. Forsøket vårt har vist at rognkjeksen voks frå ei startvekt på 7.79g i snitt for gruppene til 37.95g på berre 6 veker, med dagleg tilvekst på 3-4%. Det tilsvara nesten ei femdobling på 6 veker. I eit forsøk av Morken et al. (2016) der dei testa ulike energinivå i rognkjeks diett, fant dei at fisken voks frå 1.7g til 18.9g på 56 dagar. Dette tilsvarar ein 11 gongars auke i vekta, dette viser at rognkjeksen kan vokse svært godt.

I forsøk på laks og regnbogeaure har dei finne at metta feittsyrer reduserer fordøyeligheten til feitt, særst ved låge temperaturar, så inklusjonen av vegetabilsk olja fører til auka fordøyelighet og tilhøyrande bedre vekst (Caballero et al. 2002), dette er i kontrast til resultatata i forsøket vårt. Feitt har generelt høg fordøyelighet hos fisk >90% (Hertrampf & Piedad-Pascual, 2000). Lengda på feittkjeda har innvirkning, mengda og plasseringa av første dobbeltbinding påverkar og forsdøyelegheiten, der n-3 feittsyrer vert absorbert fort (Francis et al. 2007). Sjølv med forhaldsvis høg fordøyelighet frå alle feittsyrer opplevde Francis et al. (2007), at ei gruppe murraytorsk fekk dårlegare tilvekst når dei fekk fôr med miksa oljekjelde. Dette skjedde truleg fordi både protein og feittfordøyeligheten gjekk marginalt ned <10%. Dette vert underbygd av forsøket til (Montero et al. 2005) der 60% substitusjon av fiskeolja med rapsolja førte til lågare vekst for europeisk havabbor (*Dicentrarchus labrax*). Opp til 80% oljesubstitusjon i dorade (*Sparus aurata*) førte til sterkt redusert vekst, både med tanke på vektauke og SGR (Izquierdo et al. 2005). Enkelte artar som ørnefisk (*Argyrosomus regius*) kan ein erstatta 80% av fiskeolja med vegetabilsk olje (soyaolje) utan å påverke vekst (Emre et al. 2015), mens cobia (*cobia Rachycentron*) som er ein annan marin fisk tålte opp til 67% inklusjon av vegetabilsk olje utan negative konsekvensar. For havkaruss (*Sparus aurata*) er det vist at ein berre kan erstatte 48% av fiskeolja i utan negative konsekvensar (Martinez-Llorens et al. 2007).

Rognkjeksen som fekk 100% rapsolja fekk signifikant høgare ($P<0.001$) hepatosomatisk indeks enn fisken som hadde fått opp til 50% RO i fôret. Bowyer et al. 2012 fekk også tilsvarande resultat på yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) fôra canola olja. Auka levervekt er

teikn på feittakkumulering i levera, som kan vere knytt til auka lipid peroksidase, nedsett lever funksjon, dårlig næringsopptak og nekrose (Craig et al. 1999, Tucker et al. 1997). Feittsyresamansetninga i dietten har sterk samanheng med utvikling av enzym som er viktige for lipid metabolismen i fisk. Difor vert det viktig med eit balansert forhold av n-3/n-6. Eit av tegna på feil feittsyrebalanse er auka lipid deponering i levera (Takeuchi et al. 1979). Endring i lipid metabolismen i gruppa med 100% rapsolja kan vera ein mulig forklaring på forstørta lever.

Rognkjeks har høg k-faktor, rundt 8 mot laksens 1-1.3. Imsland et al. (2018) har dokumentert ein kondisjonsfaktor på rundt 4, som er vesentleg lågare enn me fekk i vårt forsøk, men i forsøket til Imsland et al. (2018) var fisken større (125gram startvekt), noko som truleg også er forklaringa på lågare k-faktor. I forsøket vårt fann me signifikante endringar i k-faktoren, i motsetning til Mozanzadeh et al. (2016) som hadde eit forsøk med oljesubstitusjon på sobaity havabbor, der fann dei at 100% canola olje substitusjon ikkje påverka K-faktoren. I forsøket vårt fann me eit litt tvetydig resultat på K-faktoren i veke 3, då den var signifikant høgare for 25% RO (P=0.015). I veke 6 derimot K-faktoren signifikant høgare for 100% RO samanlikna med kontroll og 25% RO (P<0.001). Ein bør vurdere i kor stor grad vanleg K-faktor etter standard formel er rett å bruke på rognkjeks, då fisken har ein noko spesiell og avvikande kroppsfasjon, samanlikna med andre kommersielle artar.

4.2. Proksimal samansetning

Proksimal heilfisk samansetnings analyse er brukt for å finne vassinnhald, protein, feitt og oskeinnhald i fisken. Det er også ein god måte å finne fysiologiske forhold og helsestatus på fisken (Saliu, Joy & Catherine, 2007). Det er også eit godt utgangspunkt for å behova for fisken (Silva and Chamul, 2000). Det er også viktig for å veta kor mykje ein kan erstatte fôrråvarer utan å endre den kjemiske samansetninga til fisken, som igjen vil indikere ei helsepåverking (Saliu, Joy, & Catherine, 2007). Lipid er ein svært viktig del av dietten til rognkjeks, det er både kjelda til energi, i tillegg til at det er nødvendig for fysiologiske funksjonar som membranfluiditet, prostaglandin precursora, feittløselige vitamina, caratenoid pigment og hormon (Robaina & Izquierdo, 1995). Alle diettene i dette forsøket var iso-lipidisk, men samansetninga av feittsyrer var ulik grunna substitusjon.

Proteininnhaldet i forsøket vart lågare i gruppa som hadde fått 100% rapsolja i dietten. I (Yildiz et al. 2018) sitt forsøk med regnbogeare (*Oncorhynchus mykiss*) vart det observert eit høgare innhald av protein i fiskegruppa som hadde fått canola olje, dette er i sterk kontrast til observasjonen i forsøket vårt. I same forsøket vart sluttvekta til regnbogearen signifikant lågare enn fisken som hadde fått fiskeolja, dette kan medverka til høgare proteininnhald. Som ein konsekvens av redusert proteininnhald vil tørrstoffinnhaldet bli redusert med tilsvarande for same gruppa, det var signifikant lågare tørrstoff nivå for rognkjeksken som fekk 100% rapsolja.

Enkelte feittsyrer vert lettare tatt opp og nytta til energi enn andre. Regnbogeare bruker helst n-6 PUFA til energi om det er tilgjengeleg, for å redusera katabolismen av n-3 PUFA (Francis et al. 2014). Mens i forsøket til Hixson et al. (2014) viste dei at torsk (*Gadus morhua*) oksiderte mesteparten av n-3 PUFAen i form av ALA (18:3n-3). Om dette kan overførast til rognkjeks, så vil ein 50% substitusjon med vegetabilsk olja kunne være svært gunstig. Då det vil ha ein sparande effekt på forbruket av langkjeda n-3 PUFA feittsyrer. Men dersom ein ser på tabell 7 så ser ein at innhaldet n-3 feittsyrer vert strekt redusert i 50% RO dietten også.

I eit forsøk med bruk av camelina olje i staden for fiskeolja i fôr til atlantisk laks, regnbogeare og atlantehavstorsk av Hixson et al. (2014), fann dei at regnbogearen og atlantehavslaksen hadde muligheit til å syntisera EPA + DHA frå ALA i camelina olja i større grad enn torsken. Laksen og regnbogearen hadde evne til å elongera henholdsvis 25% og 23% av deira langkjeda n-3 PUFA behov, mens torsk berre klarte å syntisera 6% av behovet sitt frå 18:3 n-3 (ALA) som ein finn i camelina olja, truleg fordi torsk er ein karnivor marin fisk med større muligheit for å få n-3 PUFA direkte i dietten. Tilsvarande kan truleg rognkjeksken heller ikkje syntisera store mengder EPA og DHA frå mindre feittsyrer. Basert på evolusjon og tilpassing til miljøet har ulike artar ulike muligheiter og enzym for desaturase og elongase av feittsyrer (Francis et al. 2014). Fisk som europeisk havabbor (*Dicentrarchus labrax*) har svært lav rate med feittsyrekonvertering då den har lite av enzyma knytt til elongase og desaturase (D-6 desaturase og D-5 desaturase). Dette gjer at den treng eit høgt nivå av n-3 HUFA i dietten for å nå behovet av essensielle feittsyrer (Mourente et al. 2005).

Kontrolldietten i forsøket vårt hadde eit innhald av 3.55% EPA + DHA, mens 100% RO hadde 0.76% EPA + DHA i fôret. 100% RO innhaldet tilsvarar berre 21% av innhaldet i

kontrolldietten. Reduksjonen av EPA og DHA i dietten var dermed større enn reduksjonen i fisken, då fisken som hadde fått 100% RO i fôret innehaldt 31% av EPA + DHAen kontrollfisken inneholdt. Denne endringa er større enn endringa Mozanzadeh et al. (2016) fekk i forsøket sitt med fôring av sobaity seabream (*Sparidentex hasta*) der det berre var ei halvering i mengda EPA + DHA feittsyre etter 8 veker 100% fiskeolje substitusjon. I Yilmaz et al. (2016) sitt forsøk med havabbor var det derimot enda større endring, der gjekk n – 3 langkjeda-PUFA frå 28.2% av total feitt med 100% fiskeolja, til 5.4% av totalt feitt med rapsolja som feittkjelde, dette understrekar kor dårlege muligheter havabboren har til desaturase og elongase. Feittsyresamansetningen i fisken viste seg å vera eit tydeleg resultat av samansetningen i fôret. All n - 3 PUFA i 100% rapsolje dietten kom frå fiskemjølet i fôret. Rapsolja inneheld mykje 18:1 n - 11 og 18:2 n – 6. Den nordlige fiskeolja som vart nytta har eit høgt innhald av 22:1 og 20:1 feittsyre, og helst låge n – 3 PUFA samanlikna med sardin og ansjosolja (Torstensen et al. 2004).

Feittsyresamansetninga i rognkjeks vart tydelig endra i forsøket, og fleirumetta feittsyre som EPA og DHA vart tydelig endra av dietten. Dette er som forventa, då DHA + EPA nivået i 100% RO er lavt. Rognkjeks sitt krav til essensielle feittsyre er ikkje kjent, men forsøket kan indikere at dei er høgare enn det som følger med i fiskemjølet, då det var einaste kjelda til langkjeda n – 3 PUFA feittsyre for 100% RO gruppa. Etersom det berre var 50% fiskemjøl i diettene, og fiskemjølet inneheld maksimum 13% feitt (Norsildmel AS) var ikkje dette ei stor kjelde. For blant anna malla har det vist seg å vere tilstrekkeleg med fiskemjøl som kjelde til essensielle feittsyre (Yingst and Stickney, 1979). Piggvar fekk også tilstrekkeleg med essensielle feittsyre i eit forsøk av Regost et al. (2003), der viste det seg at innhaldet av mengda langkjeda PUFA frå fiskemjølet i fôret tilsvarte 1.3% av tørrstoffet, mens behovet til piggvar er på 0.8%. Dersom rognkjeks skulle ha same EFA behovet som piggvar, så vil det være litt lite i 100% RO dietten som ein kan sjå i tabell 3, då det berre er 0.76% EFA + DHA i den dietten.

Den naturlege dietten til rognkjeks er ofte forholdsvis næringsfattig (Imslund et al. 2019). I motsetning til dei fleste artar i akvakulturnæringa der vekst er hovudmålet, er dette ikkje tilfelle for rognkjeks. I forsøk har det blitt påvist at små rognkjeks (startstørrelse 20gram) har vesentleg høgare preferanse for naturlige fôrstoff enn større fisk (Imslund et al. 2016). Dette medfører at både fôrstoff og avl på rognkjeks ikkje treng bidra til rask vekst, men derimot god helse. For å oppretthalda den gode helsa til rognkjeks må me finna ut kor mykje n-3

PUFA me kan erstatta utan å påverke helsa til rognkjeksen negativt, då fiskeolja er ein begrensa resurs. Dei kan også bli kjønnsmodne allereie frå 200grams størrelse, noko som også medfører ein endring i næringsinntak og dermed redusert inntak av lakselus (Imsland et al. 2014).

4.3. Histologi

I forsøket vårt vart det ikkje observert noko signifikante endringar i tarmhistologi. Ved føring av laksesmolt med ulike vegetabiliske oljer, fann Moldal et al. (2014) at det var signifikant endring i tarmfoldlengde på midttarm. Dei fann at lengda vart redusert med ca 30% på dei ulike vegetabiliske oljekjeldene, og endringa var størst i gruppa som fekk olivenolja og litt mindre for gruppene som fekk raps og soyaolja. Dei målte også tjukkelse på tarmvegg, der var det ingen signifikant endring. I vårt forsøk på rognkjeks vart det ikkje observert ein signifikant endring i noko av tarmsegmentet, som illustrert i tabell 4. Moldal et al. (2014) fann at endringa i tarmfoldlengde følgde n-3/n-6 forholdet i vevet. Som tidlegare nemnt er endringa mindre i n-3/n-6 forhold for laksen i oljesubstitusjons forsøk enn for rognkjeks. I tabell 7 viser det at forholdet n-3/n-6 i vårt forsøk vart redusert frå 2.46 til 0.37, som burde tilsei at det burde bli ei endring i lengda på tarmfoldane om dette var utløysande faktor. I eit forsøk av You et al. (2019) med gyllen pompao (*Trachinotus ovatus*) fant dei signifikant endring i lengd på tarmfoldar med å samanlikne soyaolja med fiskeolja, det var også tynnare lamina propria, men dette var ikkje signifikant. Dette er i strid med våre oppdagingar der det var uendra som illustrert i tabell 4. Ei auke i størrelsen på tarmfoldane kan indikera auka overflata for opptak av næringsstoff, og dermed ei forbedring av fordøyeligheten. Det er ikkje gjort tilsvarende forskning på rognkjeks tidlegare, men om det hadde vore sterk negativ påverking i forsøket vårt er det grunn til å tru at responsen kunne vore lik som for laks, sjølv om laks er ein feit fiskeart mens rognkjeksen er mager. I forsøk av Lin Ye, et al. (2016) der dei erstatta fiskeolja i dietten til Atlanterhavslaks, fann dei óg at det ikkje var signifikante endringar i størrelsen på lamina propria og slimcellene i bakre tarm, med ulike vegetabilisk olja innblanda (camelina olje) så det er truleg ulike resultat med ulik olja. I tilsvarende forsøk med fiskeoljesubstitusjon for rapsolje av Mourente et al. (2005) fann dei signifikant auke i slimcelle aktivitet i midttarm, mens i fremre tarm var det ikkje signifikant forskjell. Målingane våre av slimcellene viste ingen signifikant forskjell. Men det var ein tendens at gruppene som hadde fått 100% raps hadde lågare verdiar. Resultata i forsøket tyder på at rognkjeks er ein robust art, som tåler erstatning av fiskeolja i dietten godt. Samanlikna med

laks, ser det ut som rognkjeks har ein meir robust tarm, som tåler bedre vegetabilske råvarer. Dette er truleg fordi rognkjeks er ein meir omnivor art enn dei karnivore artane eg har samanlikna med.

5. Konklusjon

Basert på analysane utført i dette forsøket viser det at fiskeolja i føret til juvenil rognkjeks kan erstattast med opp til 50% rapsolja utan å påverke vekst. Truleg kan substitusjonsnivået aukast godt ut over detta, då 100% RO viste berre moderate teikn til reduksjon i tilvekst. Den proksimale samansetninga viste heller ingen store endringar opp til 50% RO, og auka innblanding av rapsolja viste ingen signifikant endring i tarmhistologien som kan tyda at rognkjeks har ein robust tarm for vegetabilske førkjelder utan at det går på bekosting av nedsett tarmhelsa. Feittsyresamansetninga derimot vart endra ved auka innblanding av rapsolja i føret, i samsvar med litteraturen frå mange andre kommersielle artar.

Vedlegg 1:

Tabell 8: Biometriske verdier for fiskegruppene. Signifikans $P < 0.05$, Ulike bokstavar på verdiane indikerer signifikans mellom grupper. Gjennomsnitt \pm SD

Parameter	Varighet Veke	Raps olje inklusion				P-verdi
		Kontroll	25%	50%	100%	
Vekt heilfisk (gram)	0	6.68 \pm 0.08	6.93 \pm 0.08	6.89 \pm 0.08	6.79 \pm 0.08	0.177
	3	19.34 \pm 0.41a	19.51 \pm 0.42a	19.12 \pm 0.38a	17.18 \pm 0.41b	P = <0.001
	6	38.86 \pm 0.48a	39.05 \pm 0.45a	39.76 \pm 0.49a	34.25 \pm 0.45b	P = <0.001
Kroppslengde (cm)	0	4.41 \pm 0.02	4.44 \pm 0.02	4.45 \pm 0.02	4.43 \pm 0.02	0.711
	3	6.17 \pm 0.05a	6.10 \pm 0.05a	6.13 \pm 0.04a	5.90 \pm 0.05b	P = <0.001
	6	8.49 \pm 0.04a	8.54 \pm 0.04a	8.53 \pm 0.04a	8.07 \pm 0.04b	P = <0.001
Høgde (cm)	0	2.24 \pm 0.01	2.23 \pm 0.02	2.25 \pm 0.01	2.22 \pm 0.02	0.185
	3	3.50 \pm 0.03a	3.53 \pm 0.03a	3.53 \pm 0.03a	3.39 \pm 0.03b	0.003
	6	4.25 \pm 0.02a	4.27 \pm 0.02a	4.36 \pm 0.02b	4.16 \pm 0.02c	P = <0.001
SGR (% per dag)	0	4.31 \pm 0.19	4.33 \pm 0.08	4.29 \pm 0.08	3.80 \pm 0.36	0.30
	0	3.81 \pm 0.05	3.86 \pm 0.02	3.83 \pm 0.08	3.25 \pm 0.14	0.09
	0	7.67 \pm 0.09	7.99 \pm 0.16	7.69 \pm 0.07	7.72 \pm 0.10	0.119
Kondisjonsfaktor	3	8.15 \pm 0.09b	8.47 \pm 0.08a	8.20 \pm 0.07b	8.23 \pm 0.07b	0.015
	6	6.31 \pm 0.05a	6.22 \pm 0.04a	6.35 \pm 0.05ba	6.47 \pm 0.07b	P = <0.001
Hepatosomatisk indeks (%)	0	2.25 \pm 0.05	2.42 \pm 0.04	2.62 \pm 0.06	2.35 \pm 0.04	0.056
	3	2.11 \pm 0.05	2.10 \pm 0.04	2.24 \pm 0.09	2.01 \pm 0.29	0.249
	6	2.24 \pm 0.07a	2.31 \pm 0.05a	2.27 \pm 0.06a	2.54 \pm 0.05b	P = <0.001
Visera somatisk indeks (%)	0	15.08 \pm 0.16	15.56 \pm 0.09	15.90 \pm 0.10	15.20 \pm 0.12	0.163
	3	14.65 \pm 0.25	15.36 \pm 0.27	14.84 \pm 0.34	15.17 \pm 0.25	0.136
	6	14.19 \pm 0.17	14.05 \pm 0.26	14.18 \pm 0.28	14.53 \pm 1.36	0.545

Referanselista

Abolofia, J., Asche, F., & Wilen, J. E. (2017). The Cost of Lice: Quantifying the Impacts of Parasitic Sea Lice on Farmed Salmon. *Marine Resource Economics*.
<http://doi.org/10.1086/691981>

BioMar og Corbion har produsert 350.000 tonn fôr med algeråstoff: – Et av de nye redskapene i verktøykassen (05.03.2019). Lese 29.04.19 frå <https://ilaks.no/biomar-og-corbion-har-produsert-350-000-tonn-for-med-algerastoff-et-av-de-nye-redskapene-i-verktoykassen/> .

Bilal, S., Lie, K. K., Karlsen, O. A., & Hordvik, I. (2016). Characterization of IgM in Norwegian cleaner fish (lumpfish and wrasses). *Fish and Shellfish Immunology*.
<http://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.09.063>

Bornø, G., Alarcón, M., Linaker, M. L., Colquhoun, D., Nilsen, H., Gu, J., Jensen, B. B. (2016). Akutt dødelighet hos rognkjeks (*Cyclopterus lumpus*) i 2015. *Veterinærinstituttets Rapportserie*.

S.R. Craig, B.S. Washburn, D.M. Gatlin. Effects of dietary lipids on body composition and liver function in juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 21 (1999), pp. 249-255

Synopsis of biological data on the lumpsucker, *Cyclopterus lumpus* (Linnaeus, 1758). FAO fisheries synopsis.

Eliassen, K., Danielsen, E., Johannesen, A., Joensen, L., Patursson, E., (2018). The cleaning efficacy of lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.) in Faroese salmon (*Salmo salar* L.) farming pens in relation to lumpfish size and seasonality. *Aquaculture* 488, 61-65. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.01.026>.

Emre, Y., Kurtoğlu, A., Emre, N., Güroy, B., Güroy, D., (2015). Effect of replacing dietary fish oil with soybean oil on growth performance, fatty acid composition and hematological parameters of juvenile meagre *Argyrosomus regius*. *Aquac. Res.* 2015, 1–10. <http://dx.doi.org/10.1111/are.12677>.

Fernández, A., Grienke, U., Soler-Vila, A., Guihéneuf, F., Stengel, D.B., Tasdemir, D., 2015. Seasonal and geographical variations in the biochemical composition of the blue mussel (*Mytilus edulis* L.) from Ireland. *Food Chem.* 177, 43–52.

Fishmeal and fish oil figures. Henta 22.04.18 frå

http://www.seafish.org/media/publications/SeafishFishmealandFishOilFactsandFigures_201110.pdf.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Production of Fish, Crustaceans and Mollusks by Major Fishing Areas. Rome.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2014A. The State of World Fisheries and Aquaculture 2014. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome, Italy (223 pp.).

Food and Agriculture Organization of the United Nations The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. Henta frå from <http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf>

Food and Agriculture Organization of the United Nations The future of food and agriculture – Trends and challenges. Rome. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-i6583e.pdf>

Francis DS, Turchini GM, Jones PL, De Silva SS (2007c) Growth performance, feed efficiency and fatty acid composition of juvenile Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*, fed graded levels of canola and linseed oil. *Aquaculture Nutrition* 13: 335–350.

Francis D., T. Thanuthong, S. Senadheera, M. Paolucci, E. Coccia, S. De Silva, G. Turchini (2014). n-3 LC-PUFA deposition efficiency and appetite-regulating hormones are modulated by the dietary lipid source during rainbow trout grow-out and finishing periods. *Fish Physiol. Biochem.*, 40 (2014), pp. 577-593

Forskrift om drift av akvakulturanlegg.

(akvakulturdriftsforskriften). Henta 21.04.19 fra www.lovdata.no:

<https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2008-06-17-822>

Forskrift om krav til teknisk standard for flytende

akvakulturanlegg (NYTEK-forskriften). Henta 21.04.19 fra www.lovdata.no:

<https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2011-08-16-849>

Forskrift om bekjempelse av lakselus i akvakulturanlegg. Henta 21.04.19 fra www.lovdata.no: <https://lovdata.no/dokument/LTI/forskrift/2017-03-06-275>

Gonzalez-Felix, M.L. C. Minjarez-Osorio, M. Perez-Velazquez, P. Urquidez-Bejarano.

Influence of dietary lipid on growth performance and body composition of the Gulf corvine, *Cynoscion othonopterus* *Aquaculture*, 448 (2015), pp. 401-409

Groner, M. L., Cox, R., Gettinby, G., & Revie, C. W. (2013). 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. *Journal of Fish Diseases*.

<http://doi.org/10.1111/jfd.12017>

Haugland, G. T., Olsen, A. B., Rønneseth, A., & Andersen, L. (2017). Lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.) develop amoebic gill disease (AGD) after experimental challenge with *Paramoeba*

perurans and can transfer amoebae to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*.

<http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.04.001>

Havforskningsinstituttet 2014, Framdriftsrapport til Mattilsynet over lakselusinfeksjonen på vill laksefisk sommeren 2014. henta 13.05.19 frå

https://www.imr.no/filarkiv/2014/10/forelopig_statusrapport_til_mt_over_lakselusinfeksjonen_pa_vill_laksefisk_sommeren_2014.pdf/nb-no

The marine ingredient organisation, <http://www.iffonet.net/fish-fish-out-fifo-ratios-conversion-wild-feed>

Imsland, A. K., Reynolds, P., Eliassen, G., Hangstad, T. A., Nytrø, A. V., Foss, A., Elvegård, T. A. (2015a). Feeding preferences of lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.) maintained in open net-pens with Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*.

<http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.048>

Imsland, A. K., Reynolds, P., Eliassen, G., Hangstad, T. A., Nytrø, A. V., Foss, A., Elvegård, T. A. (2015b). Assessment of suitable substrates for lumpfish in sea pens. *Aquaculture International*, 23(2), 639–645. <http://doi.org/10.1007/s10499-014-9840-0>

Imsland, A. K., Reynolds, P., Nytrø, A. V., Eliassen, G., Hangstad, T. A., Jónsdóttir, Ó. D. B., Jonassen, T. M. (2016a). Effects of lumpfish size on foraging behaviour and co- existence with sea lice infected Atlantic salmon in sea cages. *Aquaculture*.

<http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.015>

Imsland A.K., P. Reynolds, T.M. Jonassen, T.A. Hangstad, T.A. Elvegård, T.C. Urskog, B. Mikalsen. Effects of three commercially available diets on growth, cataract development and health of lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.). *Aquac. Res.*, 49 (2018), pp. 3131-3141

Ingólfsson, A. and Kristjánsson, B.K. (2011) Diet og juvenile lumpsucker *Cyclopterus lumpus* 476. doi:10.1643/0045-8511(2002)002[0472:DOJLCL]2.0.CO;2

Iversen, A., Hermansen, Ø., Andreassen, O., Brandvik, R. K., Marthinussen, A. and Nystøyl, R. (2015). Kostnadsdrivere i lakseoppdrett (Cost Drivers in Salmon Farming). No. 41/2015, 1–43. Nofima

Jansen, P. A., Grøntvedt, R. N., Tarpai, A., Helgesen, K. O., & Horsberg, T. E. (2016). Surveillance of the sensitivity towards antiparasitic bath-treatments in the salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*). *PLoS ONE*. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0149006>

Kabeya, N., Yevzelman, S., Oboh A., Tocher D. R., Monroig O. (2018) Essential fatty acid metabolism and requirements of the cleaner fish, ballan wrasse *Labrus bergylta* : Defining pathways of long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis. *Aquaculture* 488 (2018) 199-206.

Kalager, F. , Hellen T., (2018) Kostnader knyttet til behandling mot lakselus i norsk havbruksnæring, (masteroppgave, Universitetet i Stavanger) Henta frå https://brage.bibsys.no/xmlui/bitstream/handle/11250/2566162/Kalager_Fredrik_Sandvaer_Hellen_Thomas.pdf?sequence=4&isAllowed=y

Kanazawa A, Teshima S, Sakamoto M, Awal MA (1980) Requirements of *Tilapia zillii* for essential fatty acids. *Bulletin of the Japanese Society for Scientific Fisheries* 46: 1353–1356

Kolkovski, S., Czesny, S., Dabrowski, K., (2000) Use of Krill Hydrolysate as a Feed Attractant for Fish Larvae and Juveniles, *Journal of the World Aquaculture Society* 31, 81-88. doi: 10.1111/j.1749-7345.2000.tb00701.x

Krkošek, M., Lewis, M. A., Volpe, J. P., & Morton, A. (2006). Fish farms and sea lice infestations of wild juvenile salmon in the Broughton Archipelago - A Rebuttal to Brooks (2005). *Reviews in Fisheries Science*. <http://doi.org/10.1080/10641260500433531>

Lin C. Ye, D. M. Anderson, S. P. Lall. (2016) The effects of camelina oil and solvent extracted camelina meal on the growth, carcass composition and hindgut histology of Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr in freshwater. *Aquaculture* 450, 397-404. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.08.019>

Liu, Y., & Bjelland, H. vanhauwaer. (2014). Estimating costs of sea lice control strategy in Norway. *Preventive Veterinary Medicine*, 117(3–4), 469–477. <http://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.08.018>

Martinez-Llorens, S., Vidal, A.T., Moñino, A.V., Torres, M.P., Cerdá, M.J., (2007). Effects of dietary soybean oil concentration on growth, nutrient utilization and muscle fatty acid composition of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquac. Res.* 38, 76–81.

Om lakselus. Henta 21.04.19 frå www.lusedata.no:

<http://lusedata.no/om-lakselus/>

Om lakselus. Sjømat Norge. Lastet ned fra: <http://lusedata.no/om-lakselus/> Mattilsynet, 2016. Seksjon fiskehelse og fiskevelferd. Mulighet og/eller sannsynlighet for at lakselus kan utvikle endret toleranse for ferskvann som følge av behandlinger med ferskvann mot lakselus og AGD i oppdrettsanlegg – forvaltningsstøtte. Lasta ned 02.03.2019 frå:

<http://wwweng.vetinst.no/layout/set/print/content/download/17048/190404/file/Vurdering%20av%20risiko%20for%20lakselus%20sin%20toleranse%20mot%20ferskvann.pdf>

Moldal, T., Løkka, G., Wiik-Nielsen, J., Austbø, L., Torstensen, B. E., Rosenlund, G., et al. (2014). Substitution of dietary fish oil with plant oils is associated with shortened mid intestinal folds in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *BMC Vet. Res.* 10:60. doi: 10.1186/1746-6148-10-60

Morken, T. K. Sørebo¹, H.E. Mikalsen, M.S.W. Breilan², L.-H. Johansen, E. Aasum. 2016. ADAPTED NUTRITION FOR JUVENILE LUMPFISH (*Cyclopterus lumpus* L.). Henta den 14.05.19 frå <https://www.was.org/easonline/AbstractDetail.aspx?i=6339>

Mourente G., J.R. Dick, J.G. Bell, D.R. Tocher. (2005). Effect of partial substitution of dietary fish oil by vegetable oils on desaturation and [beta]-oxidation of [1-¹⁴C]18:3n-3 (LNA) and [1-¹⁴C]20:5n-3 (EPA) in hepatocytes and enterocytes of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) *Aquaculture*, 248 (2005), pp. 173-186

Nasopoulou, C. I. Zabetakis. (2011) Benefits of fish oil replacement by plant originated oils in compounded fish feeds. A review. *Lwt – food science and technology.* 47, (2012) 217 - 224

Naczka, M., Williams, J., Brennan, K., Liyanapathirana, C., Shahidi, F., 2004. Compositional characteristics of green crab (*Carcinus maenas*). *Food Chem.* 88, 429–434.

Nilsen, A., Nielsen, K. V., Biering, E., & Bergheim, A. (2017). Effective protection against sea lice during the production of Atlantic salmon in floating enclosures. *Aquaculture*.

<http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.009>

Nimalan Nadanasabesan,. (2018) Growth, muscle cellularity and proximate composition of juvenile Lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.); replacing fish meal in the diet with plant protein, (masteroppgåve, Nord Universtitetet)

Vannkvalitet og startfôring for rognkjeks henta 13.05.19 frå

<https://www.sintef.no/prosjekter/vannkvalitet-og-startforing-for-rognkjeks/>

Sprague M., Dick J.R & Tocher. D.R., (2016). Impact of sustainable feeds on omega-3 long-chain fatty acid levels in farmed Atlantic salmon, 2006–2015. *Scientific Reports* 6, Article number: 21892.

Takeuchi L., H. Takeda, T. Watanabe, Availability of dietary phosphorous in carp and rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 45 (1979), pp. 1527-1532

Takeuchi T, Satoh S, Watanabe T (1983) Requirement of *Tilapia nilotica* for essential fatty acids. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 49 : 1127–1134

Turchini, G.M. Torstensen, B.E.. Ng W.-K, Fish oil replacement in finfish nutrition, *Reviews in Aquaculture*, 1 (2009), pp. 10-57

Turchini, G.M., Francis, D.S., Senadheera, S.P.S.D., Thanuthong, T., De Silva, S.S., (2011). Fish oil replacement with different vegetable oils in Murray cod: evidence of an “omega-3 sparing effect” by other dietary fatty acids. *Aquaculture* 315, 250–259.

Tucker J.W., Lellis W.A., Vermeer, G.V. Roberts D.E., Woodward P.N.

The effects of experimental starter diets with different levels of soybean or menhaden oil on red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*, 149 (1997), pp. 323-339

Tucker, J.W. (1998), *Marine Fish Culture*. Massachusetts, USA, Kluwer Academic Publishers (1998)

Ytrestøy, T. Aas, T. S. T. Åsgård, (2015) Utilisation of feed resources in production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Norway, *Aquaculture* 448, 365-374.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.023>

Watanabe T (1982) Lipid nutrition in fish.
Comparative Bio-chemistry and Physiology B 73 : 3–15

Willumsen, L. (2001). Fangst av rognkjeks (*Cyclopterus Lumpus L.*) og rognkjeks som lusespiser på laks. GIFAS.