

MASTEROPPGAVE

Emnekode: BIO5002_1

Navn / kandidatnr: Sven Krister Hoddevik / 4

Fordøyelighet og tilvekst hos post-smolt laks fôret ulike kombinasjoner marine og planteråvarer

Dato: 02.09.19

Totalt antall sider: 42

Forord

Denne oppgave var avsluttende del av master studie i biologi og akvakultur ved Nord universitet. Jeg vil i denne anledning få rette en stor takk til hovedveileder Mette Sørensen som har hjulpet meg hele veien fra start til slutt. Jeg vil også rette en takk til Kjetil Korsnes og BioVivo technology som har både delt kunnskap og hjulpet meg med analyser av kolesterol og tyroksin. Jeg vil også takke Nimalan Nadasabesan for god hjelp med SPSS.

Forsøket var en del av et større prosjekt for å studere sammenhengen mellom fôr og helse hos laks. Prosjektet er finansiert av MABIT, BioVivo Technolgy as og Nord universitet.

Summary

In order to meet the requirements for a sustainable aquaculture industry, the composition of feed ingredients has changed. The amount of fishmeal and fish oil has been gradually reduced in the feed while the use of plant-based protein raw materials and oil has increased. Several different studies have been done to replace either fishmeal or fish oil, but little research has been published on various combinations of fishmeal and plant oil or fish oil and plant-based protein raw materials. The goal of this trial was to look at digestibility and weight gain in post smolt salmon fed various combinations of marine and plant-based protein and oil sources. The trial lasted over 65 days. There were five feedings based on different combinations of raw materials; BG1: Fishmeal + fish oil; BG2: Soybean meal and fish oil; BG3: Fishmeal + Vegetable Oil; BG4: Plant protein sources + Fish oil; BG5: Commercially similar feed. Four out of five feed groups achieved a doubling of weight during the period. The results show that lipid digestibility was significantly better for BG3 and BG5. Growth measured as weight gained, SGR, TGC was somewhat higher for BG3 and BG1. The results of the experiment indicate that the most optimal feed composition in relation to growth was the combination of fishmeal and rapeseed oil. The results indicated that the quality of raw materials is more important than the raw materials contained in the feed.

Oppsummering

For å kunne imøtekomme kravene om en bærekraftig havbruksnæring har sammensetningen av fôringredienser endret seg. Mengden fiskemel og fiskeolje er gradvis redusert i fôret mens bruken av plantebaserte protein råvarer og olje har økt. Det er blitt gjort flere ulike studier på erstatning av enten fiskemel eller fiske olje, men lite forskning er publisert på ulike kombinasjoner av fiskemel og plante olje eller fiskeolje og plantebaserte proteinråvarer. Målet med dette forsøket var å se på fordøyeligheten og vektøkning hos post smolt laks fôret ulike kombinasjoner av marine- og plantebaserte protein- og oljekilder. Forsøket varte over 65 dager. Det var fem fôr basert på ulike kombinasjoner av råvarer; BG1: Fiskemel + fiske olje; BG2: Soyabønnemel og fiskeolje; BG3: Fiskemel + Plante olje; BG4: Plante proteinkilder + Fiske olje; BG5: Kommersielt lignende fôr. Fire av fem fôrgrupper oppnådde en dobling av vekten i løpet av perioden. Resultatene viser at lipid fordøyeligheten var signifikant bedre for BG3 og BG5. Tilvekst målt som vektøkning, SGR, TGC var noe høyere for BG3 og BG1. Resultatene fra forsøket tyder på at den mest optimale fôrsammensetningen i forhold til tilvekst var kombinasjonen av fiskemel og rapsolje. Resultatene tydet på at kvaliteten på råvarer er viktigere enn hvilke råvarer det er som inngår i fôret.

Figurliste

Figur 1: Viser forholdet mellom fiskeri og akvakultur fra 1950 og frem til 2015	2
Figur 2: Eksport av sjømatprodukter fra Norge i millioner ton	5
Figur 3: Norge sin sjømat eksport vist i milliarder norske kroner	5
Figur 4: Viser prosentvis inndeling av ulike råvarer til fôr brukt i Norsk lakseoppdrett fra 1990 og frem til 2013	7
Figur 5: Prosent Andel plante ingredienser i fôr brukt i Norsk lakseoppdrett fra 1990 og frem til 2013	9
Figur 6: Bruken av marine ingredienser i Norsk fôr produksjon til oppdrettslaks fra 1990 og frem til 2013	13
Figur 7: Nivåer av EPA og DHA pr 100g servering	14
Figur 8: Skisse av forsøksdesign inkludert nummererte tanker, arbeidsbenk og inngang fra sluse i hall 4.	20
Figur 9: Gjennomsnittlig SGR for forsøket	24

Tabelliste

Tabell 1: Mest brukte fôr ingredienser i norsk lakseoppdrett i 2012	10
Tabell 2: Råvaresammensetning i forsøksfôrene.	18
Tabell 3: Beregnet innhold av næringsstoffer i fôr	19
Tabell 4: Beskrivelse av fôrgrupper og karnummerering	19
Tabell 5: Forskjellige tilvekst parameter for Atlantisk laks fra 21.06.2018 til 31.08.2018	24
Tabell 6: Tilsynelatende fordøyelighet.	25
Tabell 7: Kolesterol og tyroksin (T4).	25

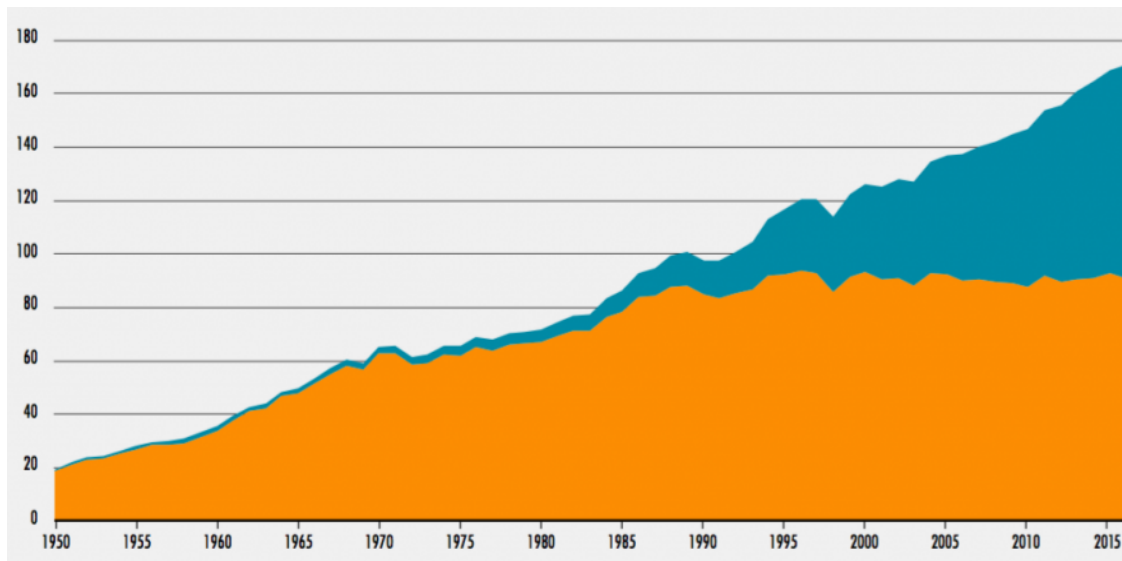
Innholdsfortegnelse

Forord	i
Summary	ii
Oppsummering	iii
Figurliste	iv
Tabelliste	iv
Innholdsfortegnelse	v
1.0 Introduksjon	1
1.1 Utviklingen til oppdrettsfôr	6
1.2 Plante ingredienser	8
1.3 Fiskemel og fiskeolje	11
1.4 Alternative fôr ingredienser	14
1.5 Hensikt	16
2.0 Material og metode	17
2.1 Fisk og forsøksoppsett	17
2.2 Forsøksfôr og Design	17
2.2.2 Fôr	17
2.2.1 Design	19
2.3 Dyrehold og fôring	20
2.4 Prøve takning	21
2.5 Analyser av blod, fôr og feces	21
2.6 Beregning og statistikk	21
3.0 Results	23
3.1 Tilvekst	23
3.2 Tilsynelatende fordøyelighet	25
3.3 Kolesterol og tyroksin	25
4. Diskusjonen	26
4.1 vekst	26
4.2. Kolesterol og tyroksin (T4)	27
4.3. Fordøyelighets koeffisient	27
4.4. Konklusjon	29
Litteraturliste	30
Vedlegg 1	34

1.0 Introduksjon

Ved 70-års jubileet til de Forente Nasjoner i 2015 ble FNs bærekraftsmål vedtatt. *"Dette er verdens felles arbeidsplan for å utrydde fattigdom, bekjempe ulikhet og stoppe klimaendringene innen 2030"* ("FNs bærekraftsmål," 27.09.2015). I denne rapporten er det satt 17 mål som skal være oppnådd innen 2030. Mål nummer to: *"Utrydde sult, oppnå matsikkerhet og bedre ernæring, og fremme bærekraftig landbruk"*. Verdensbefolkning er forventet å øke med 80 millioner innbyggere hvert år. Befolkningsveksten medfører at det i år 2050 vil da være omtrent 9 milliarder mennesker på jorden. For å kunne imøtekomme det voksende behovet for mat, har «The Food and Agricultural Organization of the United Nations» (FAO) estimert at den globale matvareproduksjonen må øke med 70 prosent (FAO, 2018). Under bærekrafts mål to er det flere delmål. Delmål 2.4 omhandler å sikre at det finnes bærekraftige systemer for matproduksjon. For å kunne oppnå mål og delmål må blant annet produksjonen av mat økes, og systemer for produksjon av mat må bli bærekraftige. I 1982 var det årlige kjøtt forbruket pr person 15kg. I 2030 er det estimert at den årlige kjøtt forbruken pr person vil stige til 37kg (FAO, 2018). Økningen i kjøtt konsum, økningen i befolkningstetthet, samt økningene av den globale levestandarden er viktige faktorer som er tatt i betraktning når estimatet på 70 % økning i matetterspørselen legges til grunne. Økt akvakulturproduksjon kan bidra til å oppnå FNs bærekraftsmål I 2030. I 2016 nådde den globale fiskeproduksjonen et foreløpig toppunkt med 171 millioner tonn. Av de 171 millioner tonnene stod akvakultur for 47 prosent (rundt 80,4 millioner tonn) (FAO, 2018). Siden 80 tallet har viltfanget fisk lagt på et stabilt nivå. På figur 1 kan vi se hvordan utviklingen mellom akvakultur og fiskeri har utviklet seg de siste 65 årene.

Figur 1: Viser forholdet mellom fiskeri og akvakultur siden 1950 og frem til 2015 (FAO, 2018)



Figur hentet fra FAO sin årlige rapport om tilstanden til verden fiskeri og akvakultur produksjon fra 2018.

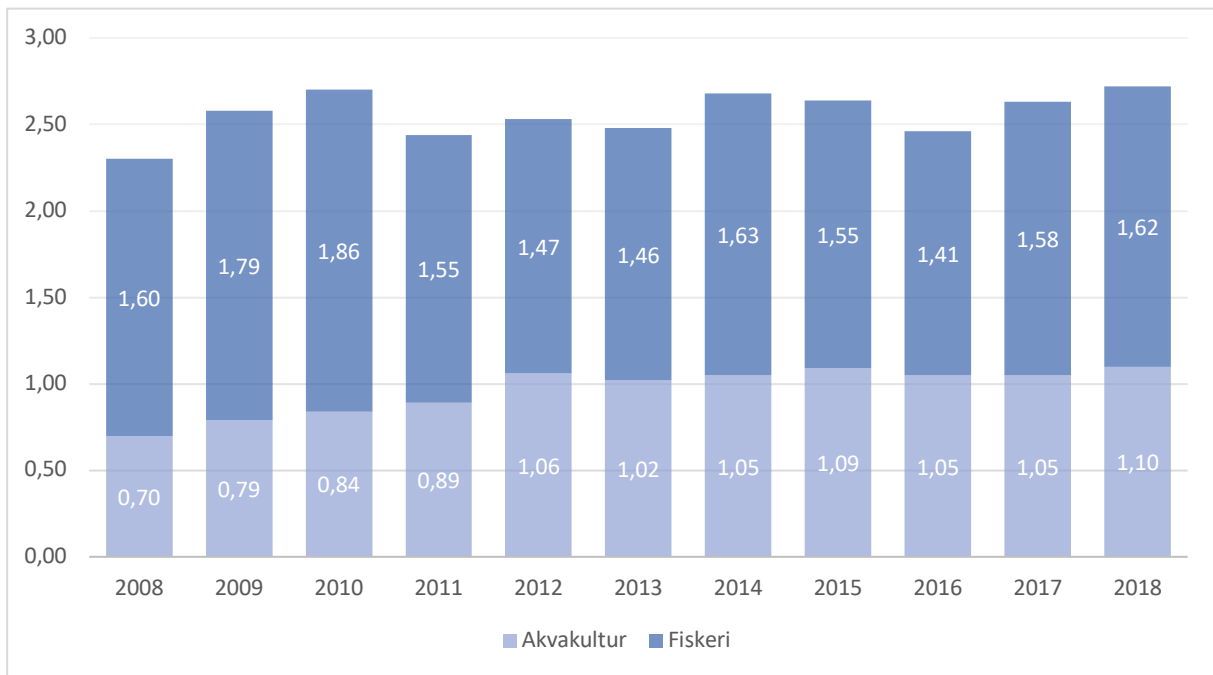
Akvakultur har i hovedsak stått for den globale kontinuerlige veksten av fiskeindustrien fra 1961 og frem til år 2016 (FAO, 2018). På disse årene har forbruket av fisk økt med 3,2 prosent mens befolkningsveksten har økt med 1,6 prosent. Dette forteller i grove trekk om et marked med god etterspørsel etter fiskeprodukter som i fremtiden kan bli enda viktigere med tanke på å etterkomme FNs bærekraftsmål for 2030.

Fiskeri og akvakultur er i dag en viktig bidragsyter til mat i flere ulike land og kulturer. Fiskeriprodukter er også en viktig proteinkilde i en rekke land. Og potensialet for at fiskeri og akvakultur i fremtiden kan stå for en større andel av den globale matvareproduksjonen er høyst reel. Globalt står fiskeri og akvakultur for en relativt lav prosentandel av mat som blir produsert. Om vi ser dette i forhold til land areal og sjø areal på jorden. Er det naturlig å tenke seg til potensiale det er for å produsere frem marine matprodukter.

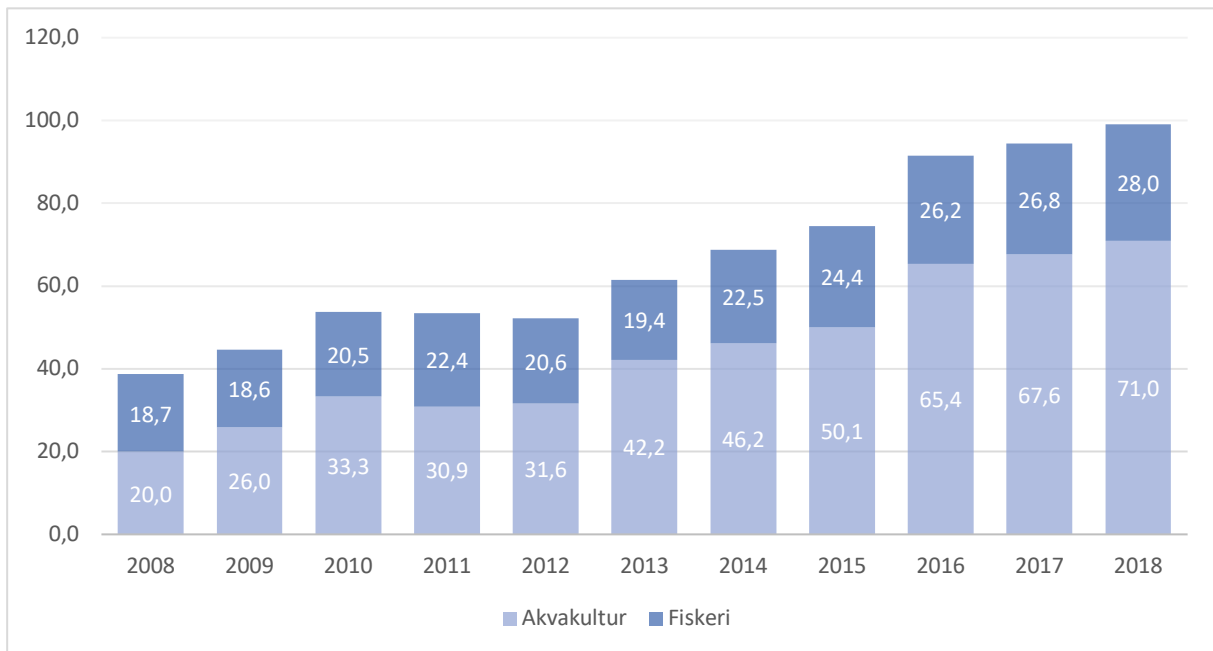
Matvare produksjon setter sine klima spor i dag, både på land og sjø. På grunn av forbruken av fossilt brensel, forbruk av råvarer, landareal, ferskvann, fosfor eller lignende. Selv om potensialet er til stedet for videre vekst av akvakultur og fiskeri er det flere ulike utfordringer som må løses før videre vekst kan foreligge. For viltfanget fisk er en av hovedutfordringene knyttet til høsting på en bærekraftig måte. Det er derfor lagt ned lover, bestemmelser og retningslinjer som skal regulere fangsten for fiskeri. Eksempel på dette kan være FAOs «Code of Conduct» som er prinsipper og internasjonale standere om hvordan man bevarer arter for fremtidige generasjoner på en bærekraftig måte. Det er ikke lovpålagt å følge disse men de er ofte basert på internasjonale standere som må følges (FAO). For akvakultur er det ofte sykdom som trekkes frem som en av hovedutfordring som setter begrensninger for videre vekst. I akvatiske miljøer med høyt individ tetthet er det økt fare for horisontal smitte av patogener innad i gruppen og smitte av villfisk. Sykdommer i oppdrett sammenheng kan få store konsekvenser både velferdsmessig og økonomisk for selskapet som er ansvarlig. De seinere år er det også knyttet utfordringer til fôr når det kommer til bærekraft i forbindelse med akvakultur. I akvakulturproduksjon skiller vi ofte mellom to ulike produksjons former, ekstensivt- og intensive oppdrett. Ekstensivt oppdrett baserer seg på arter som får maten tilført fra omgivelsene. Mens intensiv oppdrett baserer seg på tilførsel av fôr fra en ekstern kilde (Stevenson, Irz, Alcalde, Morrisens, & Petit, 2007). I 2016 ble det produsert 24.4 millioner tonn (FAO, 2018) med akvatiske organismer som ikke er avhengig av en ekstern næringskilde. Typiske arter for dette er karpe fisker. Mens akvakultur som baserer seg på tilførsel av fôr produserte 56 millioner tonn og stod for nærmere 70% av den totale produksjonen av akvakultur produkter(FAO, 2018). Den vanligste arten for intensivt oppdrett i Norge er laksefiskene, atlantisk laks eller regnbueørret.

For Norge som er verdens største produsent av atlantisk laks. Er det særs viktig å levere et produkt som er bærekraftig. Et bærekraftig produkt både gagnar omdømme samtidig som det også ivaretar de naturressursene som næringen er avhengig av for å kunne fortsette videre drift. Tradisjonelt sett i produksjonen av fôr til karnivor fisk er det brukt fisk fra små pelagiske arter som hovedingrediens for de marine råvarene i fôret. De små pelagiske artene er gunstige grunnet sin nærings sammensetning og lave pris (Bendiksen, Johnsen, Olsen, & Jobling, 2011). Utfordringen er at det ikke er mulig å øke fangsten av fôrfisk i takt med etterspørselen etter fôr på en bærekraftig måte. De siste årene er andelen marine ingredienser erstattet av plante ingredienser for å kunne gjøre selve produksjonen av atlantisk laks mer bærekraftig. Fiskeri og akvakultur påvirke hverandre selv om den ene formen fanger villfisk mens den andre produserer fisk i fangenskap. Tradisjonelt sett er det fiskeri som skaffer de marine råvarene som trengs til fôr produksjon. Akvakultur er med å mette etterspørselen til fiskeprodukter. Akvakultur er en bidragsyter som kan være med å dekke verdens økende matforbruk. Figur 2 viser eksporten av sjømatprodukter i millioner ton i Norge de siste 10 årene. Fiskeri har hatt både oppganger og nedganger i eksport i millioner ton de siste 10 årene mens akvakultur har hatt en marginal økning av eksport de siste 10 årene. Figur 3 viser eksporten av sjømatprodukter fra Norge vist i milliarder kroner. 2018 viser en rekordhøy eksport av marine produkter fra Norge i milliarder norske kroner. Figur 2 og figur 3 viser at eksporten i ton holdes forholdsvis stabil samtidig som eksporten i verdier går opp. Fiskeri og akvakultur er to viktige industrier som skaper mange arbeidsplasser i Norge. Og viser at det er viktig og ta være på de naturressursene som gjør sjømatnæringen mulig.

Figur 2: Eksport av sjømatprodukter fra Norge i millioner ton (Sjømatråd, 2019).



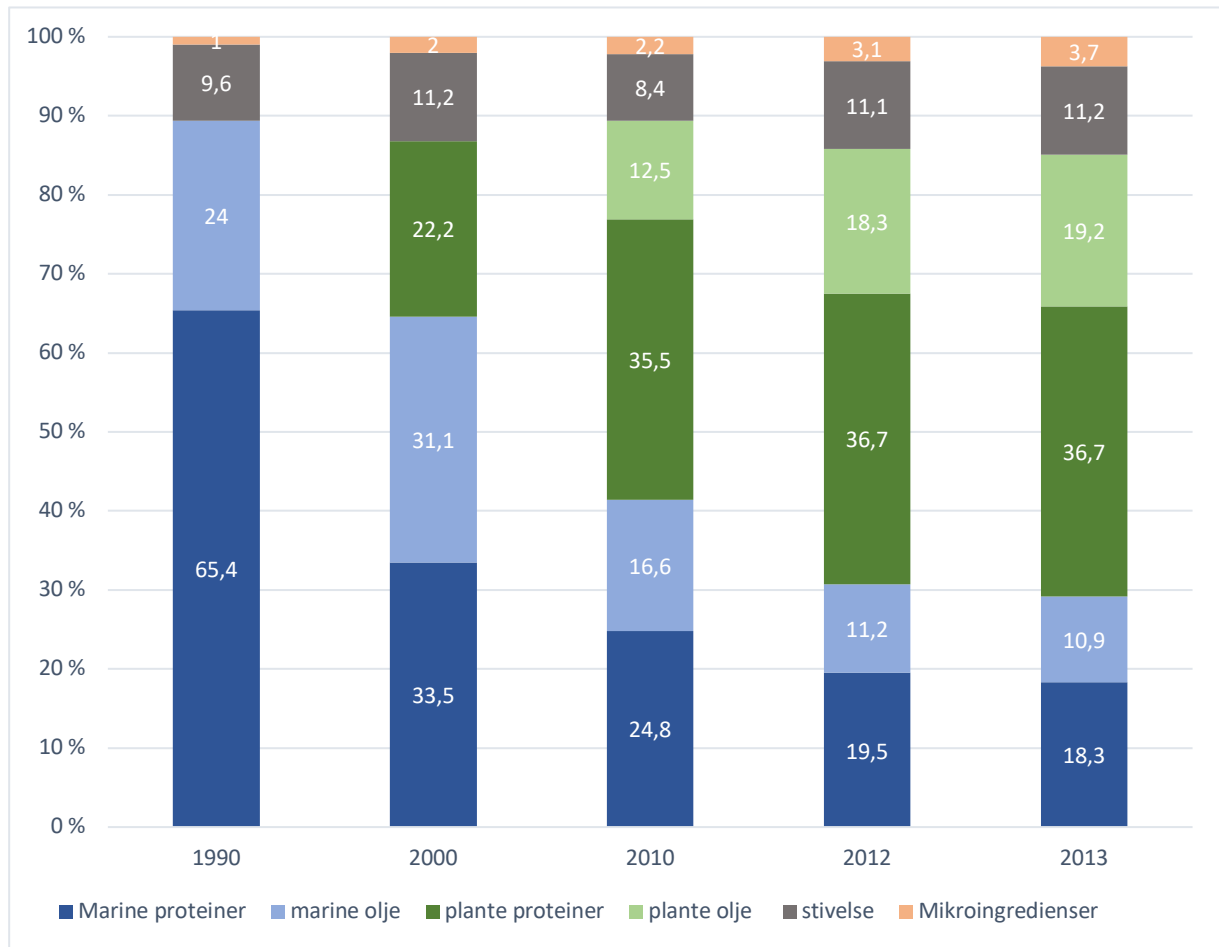
Figur 3: Norge sin sjømat eksport vist i milliarder norske kroner (Sjømatråd, 2019).



1.1 Utviklingen til oppdrettsfôr

I Norge hvor produksjon av atlantisk laks virkelig begynte å skyte fart på 1980 tallet bestod fôret i hovedsak av to ingredienser, fiske olje og fiskemel. De to marine ingrediensene var den største bestanddel i fôrreseptene. Fôr står for mellom 40-60% av produksjonskostnaden av laksen (Sinha, Kumar, Makkar, De Boeck, & Becker, 2011). Produksjonen av fiskemel har vært stabil de siste årene samtidig som etterspørselen har økt, noe som har resultert i at prisene har steget betraktelig. Grunnet økte priser, økt etterspørsel og økt bevissthet rundt bærekraft har det de siste 10 årene skjedd en endring i bruken av råvare i fôr industrien. Over tid er marine råvarer gradvis byttet ut med plante råvarer. Akvakulturnæringen er ikke alene om å bruke de marine ingrediensene, fiskemel og fiske olje er gode kilder til lipid og proteiner for landdyr produksjoner og akvakulturnæringen må konkurrere med andre næringer for de verdifulle råvarene. For å imøtekomme etterspørselen og kravene om en mere bærekraftig næring blir det sett på alternativer til marine råvarer i fôret. I løpet av de siste 10 årene har Norsk akvakultur produksjon hatt en rask vekst og selv om andelen marine ingredienser i fôret har sunket fra 70% til 30% er forbruken av marine ingredienser på samme nivå som det var for 20 år siden. De marine ingrediensene blir brukt for sine gode næringsverdier. Fiskemel for sitt proteinrike innhold og fiskeolje for sin gode fettsyresammensetning. Figur 4 viser hvordan fordelingen av råvarer i Norsk laksefôr har endret seg fra 1990 og fram til 2013.

Figur 4: Viser prosentvis inndeling av ulike råvarer til fôr brukt i Norsk lakseoppdrett fra 1990 og frem til 2013 (Ytrestøy, Aas, & Åsgård, 2015).



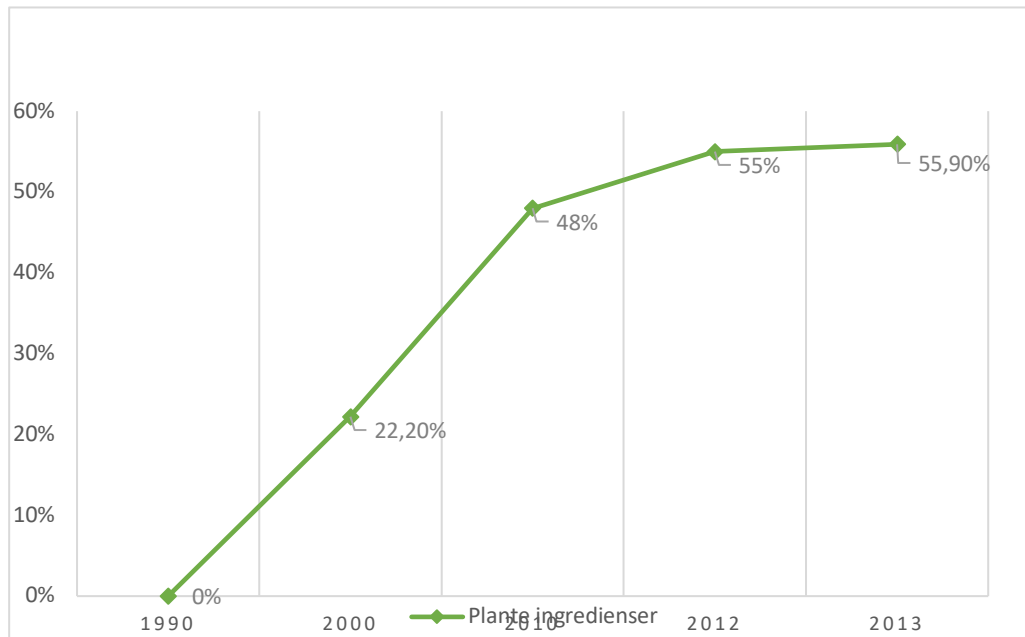
Fra figur 4 kan vi se at innblanding av marine råvarer i fôr synkende. Tilgangen på blant annet fiskeolje er begrenset. Fiskeolje er en god kilde til omega-3 (EPA og DHA) både for mennesker og dyr. For å sørge for at fôret får den riktige nærings sammensetningen må det finnes nye kilder innenfor planteråvarer til omega3 fettsyrer, eller alternative råvarer. Slik utviklingen er innenfor fôrproduksjon blir det stadig viktigere å ha kunnskap om hvilke ernæringskrav fisken har til fôret. Næringsinnhold i fôret er da viktig både for dyrevelferd, økonomi og bærekraft. På et generelt grunnlag er oppdrettere ute etter å skape et miljø som gir de beste forutsetningene for at fisken skal oppnå god fiskevelferd. God fiskevelferd blir ofte knyttet opp til bedre økonomi, og et bærekraftig produkt kan gi et bedre omdømme for produktet som igjen kan bli knytt opp til bedre økonomi. Grunnen til at dyrevelferd ofte blir knytt opp til økonomi går i hovedsak på tilvekst og kvalitet. I Norge blir kvaliteten på slaktet oppdrettsfisk delt opp i 3 hovedkategorier når de blir solgt, superior, ordinær og produksjon. Hvor fisk som er av superior kvalitet gir betydelig bedre avkastning enn fisk av lavere kvalitetsklasser. Fôrkostnader kan komme opp mot 60% av produksjonskostnaden med å

produsere matfisk. Ved å endre fôrresepten og samtidig produsere ett fôr som opprettholder eller forbedre kvaliteten på fisken og reduserer mengden fôr som trengs for å oppnå slaktevekt vil både økonomi og bærekraft potensielt forbedres. Når fôrreseptene endres for å imøtekomme forventningene om å lage et bærekraftig produkt vil det være viktig å kunne lever ett fôr med alternative ingredienser som tilfredsstiller ernæringskravet til fisken. Fôret må ha den riktige sammensetningen av næringsstoffer. Tidligere forsøk viser for eksempel at mengden omega 3 i fôr ikke har en direkte innvirkning på dødeligheten, men at den kan ha innvirkning på tilvekst og histologiske prosesser (Bou et al., 2017).

1.2 Plante ingredienser

Plante ingredienser blir brukt på bakgrunn av deres tilgjengelighet og pris sammenlignet med marine ingredienser. Plante ingredienser har som formål å kunne fungere som en erstatning til de marine ingrediensene. Til nå kan ikke marine ingredienser erstattes 100% grunnet at plante ingredienser ikke gir en tilstrekkelig tilgang på essensielle næringsstoffer for fisken. På lik linje som ved marine ingredienser vil næringsinnholdet i planter også variere avhengig av art. Plante ingredienser kommer i ulike former, i fôr sammenheng er de vanligste formene mel og olje. Plante ingredienser er i dag en råvare som produseres i store kvantum og er en stor global handelsvare. Fra figur 5 kan vi se utviklingen i bruk av plante ingredienser i Norsk laksefôr fra 1990 og fram til 2013. Plante ingredienser blir brukt som en substitutt for marine ingredienser i laksefôr og blir en ny kilde for fett og proteiner.

Figur 5: Prosent Andel plante ingredienser i fôr brukt i Norsk lakseoppdrett fra 1990 og frem til 2013 (Ytrestøyl et al., 2015).



Det er forbundet flere utfordringer når vi bytter ut marine råvarer med plante råvarer i fôret til karnivore arter. Da endrer vi balansen til næringsstoffene og tilgangen til essensielle næringsstoffer. Plante ingrediensene inneholder høyere nivåer av karbohydrater og antinæringsstoffer. For å beskytte seg mot predasjon fra herbivore arter produsere planter antinæringsstoffer (ANFs; antinutritional factors). Dette er sekundære metabolitter som vanligvis er designet for å hemme fordøyelse, absorpsjon eller bruken av næringsstoffer når de blir konsumert, og kan være skadelig for dyrehelse og ytelse. Mengden av EPA + DHA, omega-6 og enumettet fett blir endret. Aminosyre profilen og mineral innholdet er ikke like fordelaktig som de marineingrediensene (Sørensen et al., 2011a). Proteiner og lipider er helt sentrale næringsstoffer knyttet opp mot flere ulike biologiske funksjoner som for eksempel regulering av cellers oppbygging, avlesing av arvemateriale og inflammasjonsrespons. Ved ubalansert næringsinnhold og for høye nivåer av plantenæringsstoffer er det forventet at endring og da spesielt fettsyresammensetningen vil ha en innvirkning på vekst, utvikling og helse. Tidligere studier viser til at minimumsbehovet for inkludering av EPA og DHA i fôr til laks er 1% innblanding pr kilo fôr (Ruyter, Rosjo, Einen, & Thomassen, 2000). Seinere studier gjort viser at minimumsbehovet for EPA og DHA burde være 1,7% inkludering i fôret. Laks fôret med 1,7% innblanding viser betydelig større overlevelse rate en laks fôret med laver nivåer av EPA og DHA (Ruyter et al., 2016).

I tabell 1 kan vi se de vanligste ingrediensene brukt i fôr til norsk oppdrettslaks i 2012.

Tabell 1: Mest brukte fôr ingredienser i norsk lakseoppdrett i 2012 (Ytrestøyl et al., 2015).

		Fôr Ingrediens	% inkludering i fôr	
Plante ingrediens	Protein kilde	Soyaproteinkonsentrat	21,3	
		Malt solsikke?	6,0	
		Hvete gluten	5,8	
		Favabønner	1,9	
		Erteprotein	0,8	
		Mais gluten	0,8	
		Hestebønner	0,3	
	olje kilde	Rapsolje	18,3	
		stivelse	Hvete	9,9
			Ert	1,0
Marin ingrediens	Protein kilde	Tapioka	0,2	
		Fiskemel	19,5	
	Olje kilde	Fiskeolje	11,2	
Mikroingrediens		Pigmenter, vitaminer, mineraler, aminosyrer	3,1	

Belgvekster har høyt innhold av ulike ANF's, men mengden er avhengig av plantetype og prosessering for å øke proteininnholdet. Soyabønnemel er på verdensbasis en av de mest brukte proteinråvarene i fôr til husdyr, og var også en av de første planteproteinkildene som ble testet ut i fôr til laks. De førte forsøkene viste at innblanding av 20-30% soya i fôret førte til redusert fettfordøyelighet og redusert vekst (Refstie et al., 2000). Ekstrahert soyamel (SBM) er også forbundet med morfologiske endringer kjent som soyaindusert enteritt, i bakre del av tarmen hos laksefisk (Booman, Forster, Vederas, Groman, & Jones, 2018). Saponiner som er en av fler ANF's finnes i blant annet soyabønnemel og er beskrevet i forsøk som en direkte årsak til soyaindusert enteritt (SBMIE) (Sørensen, Penn, et al., 2011). I tillegg til dokumenterte utfordringer med tarm betennelse er det også forbundet utfordringer de seinere år med senket evne til lipidfordøyelse og redusert produksjon av gallesalter. Gallesalter består av gallesyre som blir produsert av kolesterol som er bundet til en aminosyre i leveren. Gallesalter har en viktig oppgave når det kommer til fordøyelse og absorpsjon av lipider, fettløselige vitaminer og andre apolare komponenter som kommer fra endogene kilder (Hofmann & Hagey, 2008). I et tidligere studiet blir det vist til laver konsentrasjoner av kolesterol og gallesalter i fisk fôret på diett basert på SBM (Sørensen, Penn, et al., 2011).

Soyaproteinkonsentrat (SPC) er en av de planteingrediensen det brukes i størst omfang som erstatning for fiskemel i norsk laksefôr, og inneholder minimum 65% proteiner (Riaz, 2011). SPC er ikke i like stor grad som SBM forbundet med endringer i tarmhistologi eller inflammatoriske responser. SPC blir fremstilt fra soyamel (vanligvis avskallet og avfettet ved ekstraksjon) ved ekstraksjon av alkoholløselige karbohydrater og alkoholløselige forbindelser.

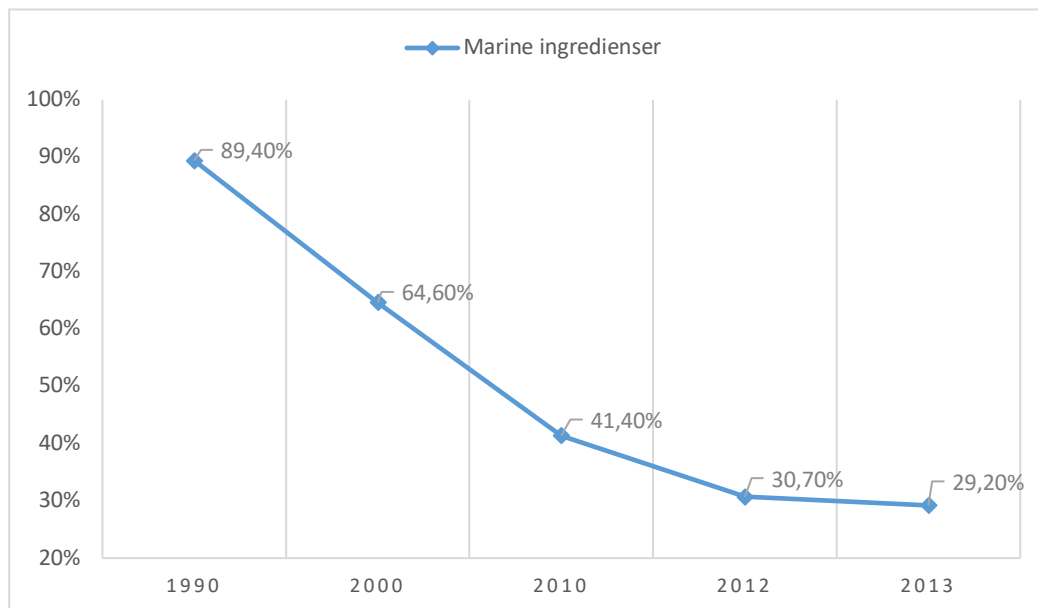
Rapsolje er den mest brukte vegetabiliske oljen i fôr til havbruksnæringen i dag. Det er vist at en inkludering ikke har negativ innvirkning på tilvekst og i noen tilfeller kan gi en økning i tilvekst. Det er også blitt vist at å erstatte noe av fiskeoljen i fôr med raps olje kan øke lipid fordøyeligheten å gi en mulig proteinbesparende effekt (Karalazos, Bendiksen, & Bell, 2011). Lavt innhold av linolsyre (18:2 n-6) og medium innhold av linolensyre (18:3 n-3) fører til at ratioen mellom omega6 og omega3 fettsyrer i muskelen er bedre enn ved bruk av de fleste andre vegetabiliske oljer. Laks har vist at den kan syntetisere lang kjedete fettsyrer fra 18-C. Raps olje sin gunstige ratio av linolsyre og linolensyre gjør egen produksjon av EPA og DHA (omega3) mulig. I et forsøk gjort på laks viste derimot at en inkludering på over 50% rapsolje førte til en nedgang i omega3 nivåer i fiske kjøttet (Bell et al., 2001). Noe som tyder på at fisken ikke klarer å syntetisere tilstrekkelig med EPA og DHA.

1.3 Fiskemel og fiskeolje.

Fiskemel og fiskeolje er tradisjonelt sett hovedingrediensene i fôr brukt til karnivore fisk. Fiskemel har et høyt protein nivå som ligger mellom 51-74% avhengig av kilden. Fiskemel har en fordelaktig nærings sammensetning som gir høy fordøyelighet av næringsstoffer, en god aminosyre profil, en smakelighet som kan stimulerer til et forbedret fôr inntak, fravær av antinæringsstoffer, og en kilde til mineraler blant annet selenium. Grunnet de positive egenskapene blir fiskemel ofte beskrevet som gullstanderen innenfor fôringredienser og knyttet opp til bedre tilvekst og forbedret fiskehelse (Miles D & Chapman A, 2015). Fiskeolje har på lik linje som fiskemel en god sammensetning av fettsyrer som er lettfordøyelige, bidrar til god smakelighet til fôret og fravær av antinæringsstoffer. Fiskeolje tilfører omega3 fettsyrer. Innholdet av EPA (eicosapentaenoic syre, 20:5 n-3) og DHA (docosahexaenoic syre, 22:6 n-3) i fiskeoljen varierer med art fiskeoljen er laget av. Det blir brukt ulike deler av fisken for å produsere fiskemel. Det som normalt sett brukes i dagens produksjon er enten helfisk eller kapp og avskjær. Fiskeolje er presset fra kokt fisk etterfulgt av sentrifugering og separasjon. Ulike råvarer brukes for både produksjon av fiskeolje og fiskemel. Tradisjonelt

sett er det hel fisk fra fiskeri som brukes men det blir mer og mer vanlig å bruke kapp og avskjær fra annen fiskeproduksjon. Største delen av råvarene brukt til Norsk fiskemel kommer direkte fra nord europeisk fiskeri. Gjennom de siste årene har det i stor grad blitt brukt fisk fra små pelagiske arter. Ulike variasjonen i bruk av arter skyldes reguleringer i fiskeri og variasjon i de ulike bestandene. En forutsetning som de fleste fôr produsenter følger er at arter og fiskebestander blir forvaltet på en bærekraftig måte. Som nevnt tidligere finnes det ulike system på ulike nivåer som vil sikre en bærekraftig fiskebestand som for eksempel: FAO sin "Cod of Conduct for Responsible Fisheries", FN "Convention on the Law of the sea" eller "Fish stock agreement" det finnes også flere ulike organisasjoner som jobber for å fremme bærekraft, kunnskap og gi statistikk over ulike bestander. Organisasjoner kan både være statlige eller statlig uavhengige organisasjoner. ICES (The International Council for the Exploration of the sea) som på norsk er det internasjonale havforskningsrådet. Det internasjonale havforskningsrådet er en mellom statelig organisasjon for havforskning og rådgiver for fiskeriforvaltning for medlemsland. ICES ble startet i 1902 av 8 Nord-europeiske kyststater, der i blant Norge som er med og etterkommer veiledning. Noe som har en innvirkning på høsting av viltfanget fisk som igjen har en innvirkning på tilgjengeligheten av marine ingredienser til produksjon av fôr. Innen 2015 har EU satt et mål om å oppnå «maximum sustainabel yield» eller seinest innen 2020. Maksimalt bærekraftig utbytte (The maximum sustainabel yield - MSY) er det teoretisk største volumet en fiske art kan bli høstet fra en fiskebestand over tid uten reduksjon i populasjons størrelse. I stedet for å utvinne olje og mel fra fôr-fisk jobbes det med ulike alternative metoder som kan erstatte dagens protein- og lipidkilde i fôret. Det kan blant annet være olje og mel som er produsert fra bi-produkter som ikke egner seg til menneskelig konsum som bein, skinn, avkapp og lignende fra sjømatproduksjon (FAO, 2018). I figur 6 kan vi se den synkende forbruken av marine ingredienser i norsk laksefôr industri fra 1990 og frem til 2013.

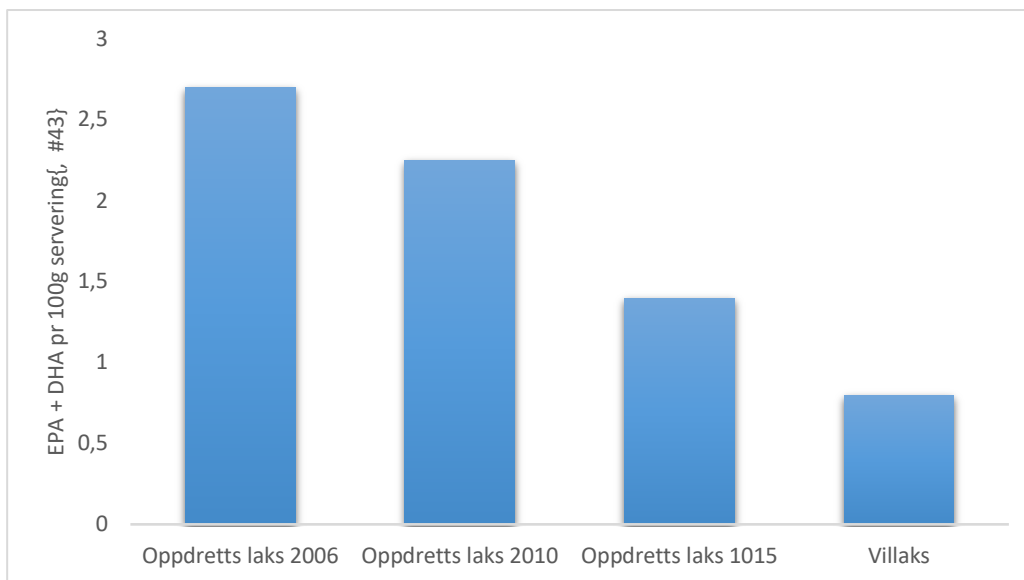
Figur 6: Bruken av marine ingredienser i Norsk fôr produksjon til oppdrettslaks fra 1990 og frem til 2013 (Ytrestøyl et al., 2015).



Reduksjonene av marine ingredienser har ført til økt fokus rundt omega-3 nivået til laksen. Det er gjort forsøk både rundt det velferdsmessige aspektet ved å redusere mengde fiske olje i fôr og der av viktige fettsyrer som EPA og DHA, og det er blitt gjort forsøk rundt hvor mye omega-3 laksen inneholder, og om oppdrettslaks fortsatt er helsefrembringende for konsumenten. I en rapport ble det sett på fettsyre sammensetningen til 3000 laks fra Skottland fra år 2006 og frem til 2015 (Sprague, Dick, & Tocher, 2016). Der viser de hvordan nivåene av omega-3 gradvis reduseres i laksekjøttet fra 2006 og frem til 2015. Anbefalte daglig inntak for ett menneske med EPA og DHA variere fra hvilken organisasjon man henviser til. I rapporten til Sprague fra 2016 ble det drøftet råd fra flere ulike organisasjoner. Om man legger til grunne råd fra International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids (ISSFAL) anbefaler de et daglig inntak på 500mg av EPA og DHA for å redusere risikoen fra kardiovaskulære sykdommer. Figur 7. viser at nivået av EPA og DHA pr 100g har gradvis sunket fra 2006 og frem til 2015. I henhold til (Sprague et al., 2016) har forbrukeren ofte en oppfatning av at nivåene av omega-3 i oppdretts laks sammenlignet med villaks er enten på samme nivå eller dårligere hos oppdretts laks. I realiteten er det betydelig høyere nivåer av DHA og EPA i oppdretts laks sammenlignet med villaks. Det som er omtrentlig likt er prosent andelen EPA og DHA sammenlignet med totale lipid nivået.

Den velferdsmessige biten går på de helsefrembringende effekten omega 3 har på selve fisken. Hvor den fremmer vekst, helse og ulike celle funksjoner i fisken. Forsøk gjort viser at minimums inkludering av omega-3 i fôr for atlantisk laks ikke bør være under 1,7 % (Ruyter et al., 2016).

Figur 7: Nivåer av EPA og DHA pr 100g servering (Sprague et al., 2016).



1.4 Alternative fôr ingredienser

Alternative fôr ingredienser som i dag er kommersielt tilgjengelig inkluderer blant annet plantebaserte råvarer, alternativ produsert fiskemel, alternativt produsert fiske olje og bi produkter fra landbasert matproduksjon. Alternative fôr ingredienser som blir sett på som lovende i fremtiden, består blant annet av encellede organismer, alternative marine ingredienser, insekts mel og genmodifiserte organismer. Tanken er å kunne finne alternative råvarer som er bærekraftige og dekker næringsbehovet til fisken på en tilstrekkelig måte. Tradisjonelt sett gir alternativ produsert fiskemel noe lavere andel proteiner og mer aske og små amino syrer (Naylor et al., 2009).

Bi produkter fra landbasert matproduksjon kommer fra blant annet kjøtt, fjær mel, blod mel og bi produkt fra fjørfe produksjon. Det er både fordeler og bakdeler ved å bruke bi produkter fra landdyr produksjon. Proteiner fra landbasert produksjon er billigere pr kg protein enn marine proteiner. Selv om næringsprofilen er god er det høyere andel mettede fettsyre og

fordøyeligheten av lipider er lavere. Bruken av råvarer fra landbruksindustrien er også regulert ulikt fra land til land (Naylor et al., 2009).

Marine næringsstoffer som kommer fra lavere trofiske nivåer blir ofte knyttet opp til en ideell næringsprofil og tilnærmet lik det som blir omtalt som gullstandarden for fiskefôr, fiskemel. Zooplankton har en sammensetning av næringsstoffer som er gunstige og ved riktig behandling av råvaren har de en god tilgjengelighet av næringsstoffer. Det er blitt gjort forsøk på Antarktisk Krill (*Euphausia superba*), hvor en delvis inkludering på 25% krillmel har gjort at atlantisk laks har hatt forbedret vekstrespons og hatt høyere fordøyelighet av næringsstoffer (Olsen, Waagbø, Ringø, Melle, & Lall, 2010.). Selv om det er blitt gjort positive funn er det også knyttet utfordringer til fangst og bevaringsmetoder samt at det er funnet tilstedeværelse av fluor og kobber (Sørensen, Berge, et al., 2011) som kan være begrensende. Krill og andre zooplankton blir sett på av mange som en av våres største utnyttede matkilde. Slik det er nå er fiske etter krill rettet mot humant konsum. Krill blir brukt som kosttilskudd grunnet sine fosfolipidbundet flerumettede fettsyrer som for mennesker skal kunne være mer biotilgjengelige og være mer involvert i reguleringen av de metabolske veiene enn hva de triacylglyserol bundet EPA og DHA fettsyrer som er funnet i fiskeoljer (Ulven & Holven, 2015). Til nå i fôr industrien blir krillmel brukt i mindre mengder som et spesial tilskudd som skal øke appetitt grunnet sin smakelighet, virke som en antioksidant og gi immunforsterkende egenskaper (Katevas D, 2014).

Andre måter å kunne finne alternative kilder til mel er å dyrke frem encellede organismer. Under encellede organismer som blir sett som mest lovende for bruk i fôr industrien kommer mikroalger, bakterier og gjær. En av fordelene med encellede organismer er at de kan produseres under kontrollert former og avhengig av organismen kan de ha tilnærmet like nærings sammensetning som fiske mel. NOFIMA har produsert frem fiskefôr med 30% biomasse fra mikroalger. Soya olje mangler til dels essensielle aminosyren for å bygge protein og marine omega3 oljer som er tilstede hos mikroalger. Det blir vist til et høyt næringsutbytte grunnet mikroalger sin lave rang i næringskjeden og at det ikke går bort energi på vekst og fordøyelighet på andre arter. Mikroalgene blir produsert på CO₂ og energi fra lys (Kousoulaki, 2018). Med vider utvikling er det mulig at mikroalger kan være en viktig bidragsyter i fremtiden for å få et mer bærekraftig fôr.

Det er fler ulike typer insekter som blir nevnt som fremtidens fôr ingredienser, blant annet larver, melorm, husfluer, mygg osv. Flere av disse inngår i fiskens naturlige diett og har høy fôrkonverteringseffektivitet, næringsprofilen ligger tett opptil ernæringskraven for fisken. Noen av utfordringene ligger på tilgjengelighet og produksjons volum samt opprettholdelse av mattrygghet

Som erstatning til tradisjonell fiskeolje i fôr blir det også sett på muligheten for at landlige planter kan bli en kilde til n-3 langkjedede flerumettede fettsyrer. Landlige planter produserer ikke omega3 fettsyrer selv, de mangler nødvendige genener (enzymene) for å kunne elongere og desaturere kort kjedete fettsyrer som for eksempel 18:3n-3 (ALA) om til langkjedete flerumettede fettsyrer (Sprague, Betancor, & Tocher, 2017). Det er flere ulike oljefrø avlinger som er rik på ALA. Og derfor er det blitt gjort genmodifisering på ulike typer oljer, som kamelina, rik på EPA (Betancor et al., 2015) og rapsolje (canola) som er rik på DHA (NIFES & Norsk Fiskeri- og Matforskning AS, 2016).

1.5 Hensikt

Det er blitt gjort flere ulike studier på erstatning av enten fiskemel eller fiske olje, men lite forskning er publisert på ulike kombinasjoner av fiskemel og plante olje eller fiskeolje og plantebaserte proteinråvarer. Hovedformålet til dette forsøket var å se på fordøyeligheten og tilvekst hos post-smolt laks fôret ulike kombinasjoner marine og planteråvarer. Det blir også sett på om kolesterol og tyroksin nivåene i blodplasma blir påvirket av fôret selv etter en relativt kort periode.

2.0 Material og metode

2.1 Fisk og forsøksoppsett.

Forsøket ble godkjent av Mattilsynet (FOTS ID 14983). Forsøket varte over en periode på 10 uker. Fisken som ble brukt var post smolt av atlantisk laks (*Salmo salar*). Gjennomsnittlig startvekt var $72,7 \pm 1,4$ g. Forsøket ble gjennomført på Nord Universitet sin forskningsstasjon i Mørkvedbukta. Fisken ble fordelt i forsøkskarene den 20 juni 2018 og fôringen startet 23. Juni. Den siste prøvetakningen i forbindelse med dette forsøket ble gjennomført 30-31 August 2018.

2.2 Forsøksfôr og Design

2.2.2 Fôr

Fôrsøksfôrene var designet for å kunne teste ulike kombinasjoner av marine råvarer og planteråvarer. Det ble derfor brukt ulike kombinasjoner av fiskemel, planteproteiner, fiskeolje og rapsolje – fra rent fiskemel og fiskeoljebasert fôr til kommersielt lignende fôr bestående av 70% planteråvarer og 30% marine ingredienser. En oversikt over råvaresammensetning og kjemisk innhold i de fem ulike forsøksfôrene er vist i tabell 3. I grove trekk er BG 1 basert på fiskeolje og fiskemel (negativ kontroll), BG 2 inneholder 1 soyamel (positiv kontroll), BG 3 er en blanding av ulike plante protein konsentrater og fiske olje, BG 4 består av fiskemel og plante olje, og BG 5 er en kommersiell lignende diett med en ratio av 70/30 plante- og marine ingredienser. Fôrene var designet for at de skulle inneholde likt innhold av protein og energi.

Forsøksfôret ble produsert av Nofima, Bergen. Tørre råvarer ble blandet i 30 minutter i en horisontal skrue blender. Etter dette ble fôrene behandlet med damp og vann i en «atmospheric double differential preconditioner» (DDC) den kondisjonerte blandingen ble ekstrudert i en «TX-52 co-rotating, intermeshing twin-screw extruder» (Wenger Manufacturing Inc., Sabetha, KS, USA). Temperaturen på de ulike fôrblendingen som gikk til ekstruderen var 86-88°C. Ved utløpet til ekstruderen varierte temperaturene fra 120°C for BG1 og BG3, 128°C for BG2 og 137°C for BG4 og BG5. For å sikre tilstrekkelig ekspansjon i fôrblendingene med laver konsentrasjoner av hvete ble det tilført mer fuktighet i form av damp, dette gjaldt for henholdsvis BG2, BG4 og BG5. Det ble brukt en matriceskive med 24

sirkulære die hull på 2,5 mm. Pelletene ble kuttet til med en roterende kniv. Det ble utført prøveuttak av fôret når forholdene var stabilisert i forkondensatoren og ekstruderen. Ekstrudatet ble deretter tørket ved en konstant lufttemperatur på 77°C ved hjelp av en dobbellags varmluftkaruselltørker (Paul Klockner, Nistertal, Tyskland) til 7-8% luftfuktighet. Tilslutt ble hvert fôr tilsatt olje i en vakum coater (Pegasus PG-10VC LAB, Dinnissen B.V., The Netherlands).

Tabell 2: Råvaresammensetning i forsøksfôrene.

Innveid, %	BG 1	BG 2	BG 3	BG 4	BG 5
Fiskemel	50,0	30,0	50,0	10,0	10,0
Ekstrahert soyamel (SBM)	0,0	20,0	0,0	0,0	0,0
Soya proteinkonsentrat (SPC)	0,0	0,0	0,0	20,0	20,0
Erteproteinkonsentrat	0,0	0,0	0,0	9,0	9,0
Hvetegluten	5,0	10,0	5,0	10,0	10,0
Hvetemel	13,9	6,6	13,9	6,0	6,0
Maisgluten	0,0	0,0	0,0	9,0	9,0
Fiskeolje	25,0	26,4	3,8	27,5	7,7
Rapsolje	0,0	0,0	21,2	0,0	19,8
Mineralpremik	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59
Vitaminpremik	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Mononatrium fosfat	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Carop. Pink (10% Astax)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Yttriumoksid	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Cholinklorid	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Metionin	0,3	0,6	0,3	0,9	0,9
Lysin	0,0	0,5	0,0	1,2	1,2
Treonin	0,0	0,1	0,0	0,4	0,4
Histidine	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3

LT fiskemel – Pealgia Ryttervik; Hvetegluten – Tereos Syral; SPC – Imcopa; Soyabønnemel – Fiskå mølle; maisgluten – Agrokorn, Denmark; erteproteinkonsentrat – AM Nutrition; Fiskeolje – Vedde Sildoljefabrikk, Rapsolje – Emmelev, Denmark; Hvete – Norgesmøllene; Vitamin, mineralpremik, MSP, Choline chloride, Methionin, Lysin, Histidin, Treonin – Vilomiks; Yttrium – VWR; Carophyll Pink – DSM, France

Table 3: Beregnet innhold av næringsstoffer i fôr.

Kalkulert som, %	BG 1	BG 2	BG 3	BG 4	BG 5
Protein	40,48	40,41	40,48	39,95	39,95
Fett	30,18	30,08	30,18	29,75	29,75
Protein: fett	1,34	1,34	1,34	1,34	1,34
Lysin	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7
Metionin	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Treonin	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6
Histidin	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
EPA	2,7	2,6	0,7	2,6	0,8
DHA	3,2	3,1	1,0	3,0	0,9
Sum EPA + DHA	5,9	5,8	1,7	5,6	1,7

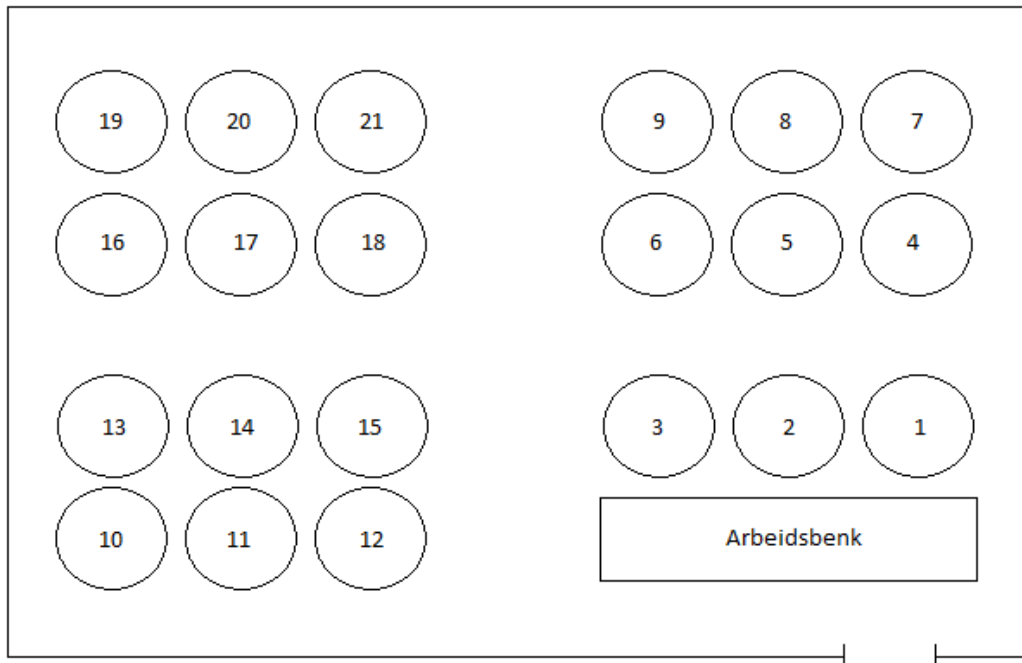
2.2.1 Design

Det ble brukt fem ulike forsøksfôr og hvert fôr ble gitt til fisk i fire kar (gjentak). Ved oppstart av forsøket var det 55 fisk i samtlige kar. Figur 8 viser en skisse av karoppsett og fôrtildeling fra kar 1-21. Tabell 4 viser hvilke fôr som ble gitt til de ulike karene. Kar 3 ble ikke brukt i forsøket. I fordelingen av tanker og fôr ble det brukt en kontrollert tilfeldig plassering.

Tabell 4: Beskrivelse av fôrgrupper og karnummerering

Fôr	Tank	Fôr	Tank	Fôr	Tank	Fôr	Tank	Fôr	Tank
BG1	1	BG2	6	BG3	4	BG4	5	BG5	2
BG1	8	BG2	7	BG3	13	BG4	10	BG5	9
BG1	14	BG2	12	BG3	17	BG4	15	BG5	11
BG1	16	BG2	20	BG3	21	BG4	19	BG5	18

Figur8: Skisse av forsøksdesign inkludert nummererte tanker, arbeidsbenk og inngang fra sluse i hall 4.



2.3 Dyrehold og fôring

Forsøksfisken ble holdt i sirkulære kar i et gjennomstrømningsanlegg. Sjøvann (33 g l^{-1} salinitet) ble pumpet opp fra 250 m dyp fra saltenfjorden, vannet ble filtrert og luftet. Vanntemperatur og oksygen metning ble registrert gjennom forsøksperioden. Gjennomsnittlig vanntemperatur for samtlige kar $7,6 \pm 0,2^\circ\text{C}$. Gjennomsnittlig oksygen metning $81,35 \pm 2,98\%$.

Over en periode på 70 dager ble fisken gitt åtte måltider per dag fordelt over 12 timer. Fôringen ble utført av fôrings automater (ArvoTech, Finnaland). Fisken fikk tilstrekkelig tilgang på fôr gjennom hele dagen.

2.4 Prøve takning

Når fisken ankom forskningsstasjonen ble den veid, målt (gaffellengde) og tatt blodprøve før den ble fordelt. Det var opprinnelig 55 fisk i hver av de 20 tankene. Det ble utført prøvetakning i to omganger. Den første etter 52 dager, den 15. august 2018 og den andre etter 70 dager, den 31. august 2018.

Ved prøvetakning 1 og 2 ble samtlige fisk målt og veid. Fisk ble overført fra det utvalgte karet og over i et midlertidig holdekar, før 3-4 fisk ble håvet over i et bedøvelseskar. Fisken ble bedøvet med MS-222 (140 mg/L) før måling av vekt, lengde og stryking. I henhold til fiskevelferd ble fisk med sårddannelser eller utilstrekkelig tilvekst avlivet. Prøvetakning ble utført ved to anledninger for å få tilstrekkelig med gjødsel slik at en kunne utføre fordøyelighets analyser.

2.5 Analyser av blod, fôr og feces.

Analyser av blodparametre ble utført i mørkvedbukta. For å finne nivåene av kolesterol og tyroksin (T4) i blodplasma ble det brukt en Vetscan vs2. Vetscan vs2 kan blant annet brukes til å analysere ulike blodparametere ved å tilsette blodplasma til en kassetten som inneholder ønsket parametere. Kassetten inneholder et fortynningsmiddel og alle profilene som er nødvendige for å utføre en blodanalyse. Kjemisk analyse av fôr og feces ble foretatt av Eurofins, dataen ble brukt til kalkulasjoner av fordøyeligheten.

2.6 Beregning og statistikk

Utrekning av SGR (specific growth rate) ble følgende formel brukt:

$$SGR = \left(\frac{\ln W_1 - \ln W_0}{t} \right) \times 100$$

W_0 er start vekt, W_1 er slutt vekt, t er antall dager.

For utregning av TGC (Thermal Growth Coefficient) ble følgende formel brukt:

$$TGC = \frac{\left(W_1^{\frac{1}{3}} - W_0^{\frac{1}{3}} \right) \times 100}{d^0}$$

W_0 er start vekt, W_1 er slutt vekt, t er antall dager, d^0 er totalantall døgngrader.

For å regne ut ADC (apparent digestibility coefficient) ble det brukt følgende formler for tørrstoff, protein, lipid, aske og energi:

$$ADC_{\text{næringsstoff \& energi}} = \left[1 - \left(\frac{\text{Markør}_{f\hat{o}r} \times \text{Næringsstoff}_{faeces}}{\text{Markør}_{faeces} \times \text{Næringsstoff}_{f\hat{o}r}} \right) \right] \times 100$$

$$ADC_{\text{tørrstoff}} = \left[1 - \left(\frac{\text{Markør}_{f\hat{o}r}}{\text{Markør}_{faeces}} \right) \right] \times 1000$$

Det ble brukt en formel for næringsstoffer, energi og tørrstoff. $\text{Markør}_{f\hat{o}r}$ og Markør_{faeces} er innholdet av markøren yttrium i prosent tørrstoff i fôr og faeces. $\text{Næringsstoff}_{faeces}$ og $\text{Næringsstoff}_{f\hat{o}r}$ er næringsinnholdet av tørrstoffet i prosent av både fôr og faeces.

Statistisk analyse ble utført ved hjelp av SPSS (versjon 24). For å teste normaliteten i rådataen ble det brukt Shapiro Wilk's test. For teste homogeniteten ble det brukt en Levene F test. Normalfordelt og homogen data ble brukt i en enveis anova for å finne P verdi. Observerte signifikante ($P < 0,05$) forskjeller mellom gruppene ble det brukt TuKey's HSD for sammenligning. Tabeller ble laget med Microsoft excel (versjon 16.25).

3.0 Results

3.1 Tilvekst

De fem ulike fôrgruppen ble akseptert av fisken. Det ble ikke visuelt oppdaget unormal adferd av fisk i de ulike karene. Innsamlet data viser avvikende tall fra normalen i kar 5 sammenlignet med de tre andre karene i BG4. Kar 5 hadde mindre tilvekst sammenlignet med kar 10,15 og 19. Selv om kar 5 avviker fra resten av BG4 har det blitt regnet med i kalkulasjoner gjort i forhold til gjennomsnitt regning av gruppene. ADC ble ikke regnet ut for kar 12 grunnet ufullstendig innsamlet mengde feces fra forsøks fisk. ADC kalkulasjoner for BG2 blir det regnet ut gjennomsnitt fra 3 gjentak og ikke 4 gjentak som er gjeldene for resterende grupper grunnet manglende mengde innsamlet prøvematerialet.

I tabell 5 kan vi se en oppsummering av ulike vekts parametere for de forskjellige fôrgruppene. De biometriske dataene som presenteres oppsummerer gjennomsnitt for de ulike fôrgruppene i start vekt (g), slutt vekt (g), tilvekst (g), Spesifikk vekst rate (SGR), og Termisk vekst koeffisient. P verdier er kalkulert for hver av parametere. $P < 0,05$ indikerer signifikante forskjeller mellom de forskjellige fôrgruppene.

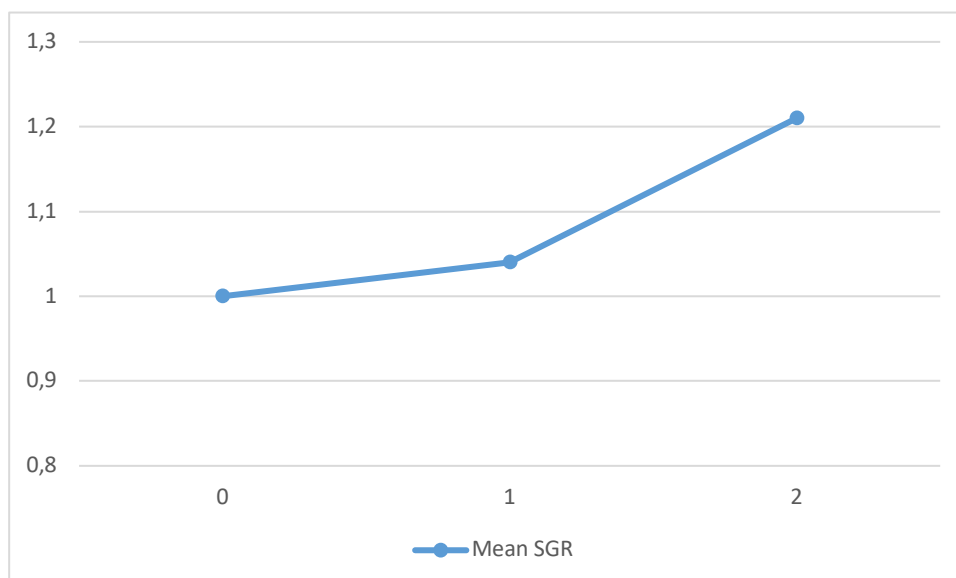
Tabell 5: Forskjellige tilvekst parameter for Atlantisk laks fra 21.06.2018 til 31.08.2018.

Parametere	BG 1	BG 2	BG 3	BG 4	BG 5	P-verdi
Start vekt (g)	72,47 ± 1,23	71,33 ± 1,02	72,89 ± 1,70	73,56 ± 1,38	73,45 ± 0,90	0,15
Slutt vekt (g)	152,3 ± 1,76 ^a	138,3 ± 1,51 ^b	158,4 ± 5,86 ^a	150,5 ± 9,33 ^{ab}	150,3 ± 4,91 ^{ab}	0,01
Tilvekst (g)	79,9 ± 4,97 ^{ab}	66,9 ± 5,03 ^b	85,5 ± 4,21 ^a	76,9 ± 10,56 ^{ab}	76,9 ± 5,37 ^{ab}	0,04
Spesifikk vekst rate	1,1 ± 0,05	1,0 ± 0,05	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,11	1,0 ± 0,06	0,11
Termisk vekst koeffisient	2,4 ± 0,15 ^{ab}	2,1 ± 0,11 ^b	2,5 ± 0,07 ^a	2,3 ± 0,25 ^{ab}	2,3 ± 0,11 ^{ab}	0,05

Verdier blir uttrykt i gjennomsnitt ± standardavvik (n=4 gjentak). Verdier i samme rad med forskjellige bokstaver viser signifikante forskjeller (p < 0,05). BG1: Fiskemel + fiske olje; BG2: Soyamel; BG3: Fiskemel + Plante olje; BG4: Plante ingredienser + Fiske olje; BG5: Kommersielt lignende fôr.

Figur 9 gir en oversikt over utviklingen til den gjennomsnittlige SGR for samtlige kar i forsøket fra dag null til prøvetakning 1 og fra prøvetakning 1 til prøvetakning 2.

Figur 9: Gjennomsnittlig SGR for forsøket



3.2 Tilsynelatende fordøyelighet

Fordøyeligheten for fôret presenteres i tabell 7. Tabellen viser p-verdier $p < 0,05$ dermed en signifikant forskjell mellom fôrgruppen og fordøyeligheten av næringsstoffene.

Tabell 6: Tilsynelatende fordøyelighet.

Parametere	BG 1	BG 2	BG 3	BG 4	BG 5	P-verdi
Tørrstoff feaces (%)	14,5 ± 0,5 ^a	10,4 ± 0,4 ^b	13,8 ± 0,8 ^a	11,2 ± 0,4 ^b	11,4 ± 0,4 ^b	<0,001
Tørrstoff ADC (%)	62,1 ± 1,5 ^{ab}	66,1 ± 2,2 ^a	68,4 ± 0,3 ^a	59,0 ± 1,7 ^b	63,66 ± 0,6 ^{ab}	0,007
Protein (%)	81,4 ± 0,9 ^b	86,1 ± 0,9 ^a	85,6 ± 0,1 ^a	86,6 ± 0,74 ^a	88,1 ± 0,3 ^a	<0,001
Lipid (%)	90,7 ± 0,6 ^b	87,3 ± 1,0 ^c	96,4 ± 0,1 ^a	92 ± 0,5 ^b	95,4 ± 0,1 ^a	<0,001
Ash (%)	-14,1 ± 5,4 ^{ab}	0,8 ± 7,2 ^a	-8,6 ± 2,3 ^a	-33,2 ± 5,3 ^b	-21 ± 0,9 ^{ab}	0,005
Energy (%)	77,6 ± 0,8 ^b	77,3 ± 1,5 ^b	83,8 ± 0,3 ^a	73,1 ± 1,2 ^b	77,0 ± 0,4 ^b	<0,001

Verdiene er uttrykt som gjennomsnitt ± SD (n=4 gjentak). Verdier i samme rad med forskjellige bokstaver viser signifikante forskjeller ($p < 0,05$).

3.3 Kolesterol og tyroksin

Tabell 7 viser at det er signifikante forskjeller mellom de ulike fôrene og nivået av kolesterol. Tyroksin viser ikke signifikante forskjeller mellom fôrene men en tendens til forskjell.

Tabell 7: Kolesterol og tyroksin (T4).

	BG1	BG2	BG3	BG4	BG5	p-verdi
Kolesterol (mmol / L)	10,3 ± 1,6 ^a	6,9 ± 1,5 ^b	9,1 ± 1,5 ^{ac}	7,8 ± 1,2 ^{bc}	9,5 ± 1,3 ^a	0,00
Tyroksin (nmol / L)	13,8 ± 3,9	17,2 ± 5,3	16,4 ± 3,2	13,45 ± 5,1	18,4 ± 5,0	0.05

Verdiene er uttrykt som gjennomsnitt ± SD (n=12 gjentak). Verdier i samme rad med forskjellige bokstaver viser signifikante forskjeller ($p < 0,05$).

4. Diskusjonen

4.1 vekst

Forsøks fôret var formulert for å undersøke fordøyeligheten og tilvekst på fisk som ble fôret ulike kombinasjoner av plante og marinbaserte råvarer. Fiskemel ble brukt som kilde til marine proteiner og en miks av høykvalitets planteråvarer ble brukt til planteprotein kilde. Fett kilden var enten fiskeolje eller rapsolje. I henhold til tidligere studier ble alle de ulike fôrene formulert med et minimums innhold av DHA + EPA på 1,7% (Ruyter et al., 2016). Forsøket var ikke designet som et tradisjonelt fôringsstudie hvor fôropptak blir kontrollert. Men i løpet av 65 dager med fôring ble det en dobling av tilvekst på 4 av 5 fôrgrupper, BG2 var den plantebaserte dietten som ikke oppnådde en dobling av vekt i løpet av forsøket. BG2 var signifikant dårligere enn samtlige fôrgrupper, og det eneste fôret som viste signifikante forskjeller i forhold til de andre fôrene på vekst. Det ble ikke vist signifikante forskjeller på SGR og TGC. Tidligere studie viser til at en inkludering slik som i BG2 av 20% SBM i fôret til atlantisk laks vil føre til betennelse i tarm (Booman et al., 2018). I samsvar til tidligere studier viste histologi bilden i vedlegg 1 at BG2 hadde tegn til enteritt. På BG2 vises blant annet en utvidelse av tarmfolden, *lamina propria*, hvor vi kan se en inntrenging av inflammatoriske celler. BG5 som er det kommersielt lignende fôret presterte ikke signifikant forskjellig på tilvekst i forhold til de andre fôrgruppene. Men vi kan se en trend hvor den presterer bedre enn BG2. BG5 presterte tilnærmet likt med BG4. Mens både BG1 og BG3 viser bedre tilvekst enn BG5. BG1 var basert på marine råvarer og viser en signifikant forskjell fra BG2 og en trend hvor den har bedre tilvekst enn både BG4 og BG5 men en dårligere tilvekst enn BG3. BG3 som var en kombinasjon av fiskemel og raps olje var det fôret som hadde best tilvekst av samtlige fôrgrupper. I et tidligere forsøk er det vist at en delvis erstatning av fiske olje med raps olje kan forbedre veksten samt ha en protein besparende effekt hos laks (Karalazos et al., 2011). I et forsøk gjort for å finne «Fish in Fish out» på ulike kombinasjoner marine- og planteråvare viste gruppen hvor fiskemel ble erstattet med 70% planteprotein og 80 % raps olje i fôret, numerisk, ikke signifikant, bedre tilvekst sammenlignet med kontroll gruppen som hadde fiskeolje isteden for rapsolje (Liland et al., 2013).

SGR viste en forbedring fra prøvetakning 1 og frem til prøvetakning 2. Tilvennings perioden i karet kan være en mulig forklaring. Om man gjennom forsøket hadde hatt en tilnærmet vekst

som vi kan observere fra prøvetakning 1 til prøvetakning 2 er det mulig at vi hadde fått større forskjeller mellom gruppene.

4.2. Kolesterol og tyroksin (T4)

Nivået av kolesterol gir signifikante forskjeller mellom fôr gruppene mens nivået av tyroksin ikke gir signifikante forskjeller, men at det er varierende nivåer mellom de ulike gruppene. I en Canadisk blodanalyse studie vises det til at det er utviklet standardiserte metoder for innsamling, oppbevaring og prøvetaknings rutiner av blodanalyse for både husdyr og landbruksdyr mens for akvakultur er dette enda ikke blitt gjort. Det er vist til at ulike prosedyrer kan gjøre at prøven vil kunne gi ulikt resultat (Braceland et al., 2017). Dette forsøket fulgte samme prosedyre for alle prøvene og forklarer ikke forskjellene i kolesterol mellom de ulike fôrgruppene, samt høy variasjon for tyroksin. Tidligere forsøk har vist en sammenheng mellom bruk av SBM, fett fordøyeligheten, samt mengde kolesterol i blodplasma (Sørensen, Penn, et al., 2011). Vi kan se at nivået av kolesterol fra det marine fôret ikke er signifikant forskjellig fra det kommersielt lignende fôret, eller fôret med en kombinasjon av fiskemel og rapsolje. Men at det er signifikant forskjell mellom BG2 og BG4.

Tyroksin (T4) har innvirkning på flere ulike funksjoner; vekst, utvikling, metabolisme, osmoregulering og smoltifisering. Jeg kunne ikke finne noen studier hvor endringer i tyroksin blir studert i forhold til fiskens fôr og bruk av ulike råvarer. Tyroksin har en sammenheng med stoffskifte, og lave nivåer av tyroksin er relatert til en diett med lavt innhold av jod. I human ernæring er gode kilder til jod blant annet hvit fisk og meieriprodukter. I dette forsøket var det ikke signifikante forskjeller mellom fôr gruppene men det var en trend at fisk fôret de plantebaserte fôret har høyere innhold av tyroksin (T4) enn det marine fôret. Forsøket hadde kort varighet, og forskjeller mellom ulike dietter på T4 var i utgangspunktet ikke forventet.

4.3. Fordøyelighets koeffisient

Fôrgruppene basert på fiskemel viste et signifikant høyere innhold av tørrstoff i feces. Tørrstoff reduksjon i feces på atlantiske laks fôret på plantebaserte råvarer har blitt rapportert ved tidligere studier til å være lavere enn ved kontrollgrupper fôret på marine råvarer. Det blir da forbundet med enteritt i tarm eller tidlige stadier av enteritt. Endret permeabilitet i tarm kan føre til nedsatte fordøyelsesfunksjoner og redusert fiskevekst (Hu et al., 2016).

Dette gjelder både for BG5, BG2 og BG4 som var fôrene basert på plante proteiner. Dette var også de tre fôrene med den laveste tilveksten.

På fordøyeligheten av tørrstoff ser vi fôr hvor fiskemel er erstattet med plante protein kilder ikke har like høy fordøyelighets koeffisient og at det er signifikant forskjellig fra fôr med kombinasjon av marine- og planteingredienser selv om det totale nivået av plante ingredienser har noenlunde det samme ratioen i fôret.

Den lave fordøyeligheten av BG1 var uventet siden man kunne forventet samme proteinfordøyelighet som for BG3. Tidligere studier har vist en varierende proteinfordøyelighet for fiskemel, noe som kan skyldes både variasjoner i råvarer og tørking. Siden fiskemelsbatchen var den samme i dette studiet var forskjeller i proteinfordøyelighet ikke forventet mellom BG1 og BG3. Resultatene tyder på at fordøyeligheten av protein ikke nødvendigvis avhenger av kilden til protein i fôret.

Fisken som ble fôret med rapsolje hadde bedre fettfordøyelighet sammenlignet med de som ble fôret fiskeolje. Resultatene stemmer overens med et fôrings forsøk over ti uker gjort på stor atlantisk laks. Hvor det ble lagd fôr grupper med høy-, medium-, og lavt protein innhold. Lipid kilden i tre av fôrene var fiskeolje og i de tre andre fôrene ble det brukt raps olje (60% erstatning). Gruppene som ble fôret rapsolje hadde signifikant økning på tilvekst, SGR og TGC mens proteinnivå ikke viste en effekt på vekst. Den signifikante økningen i vekst ble sett i sammenheng med den høye lipid fordøyeligheten til rapsolje (Karalazos et al., 2011). I vårt forsøke viste gruppen som ble fôret rapsolje (BG3) høy fettfordøyelighet samt en trend til bedre tilvekst.

Fordøyeligheten til aske viste negative verdier for flere fôr. Dette kan knyttes til fisken sin drikke rate og er blitt observert i tidligere forsøk (Aslaksen et al., 2007; Sørensen, Berge, Reitan, & Ruyter, 2016; Aas et al., 2015). Når fisken drikker sjøvann blir den påvirket av ulike elementer som er funnet i vannet. Vanlige elementer som finnes i sjøvann er Na, Ca, Mg noe som da gir både positive og negative resultater sammenlignet med elementer funnet i fôret som da vil få en stor innvirkning på den totale fordøyeligheten.

4.4. Konklusjon

De ulike kombinasjonene av marine- og planteingredienser viste variasjoner i både tilvekst og fordøyelighet. En utbytting av fiskeolje med rapsolje økte fett fordøyeligheten og ga bedre tilvekst. Resultatene tydet på at kvaliteten på råvarer er viktigere enn hvilke råvarer det er som inngår i fôret. Resultatene fra forsøket tyder på at den mest optimale fôrsammensetningen i forhold til tilvekst var kombinasjonen av fiskemel og rapsolje. Fiskemelsbaserte fôr er imidlertid ikke betraktet som bærekraftig og vil derfor ikke være kommersielt lønnsomt.

Litteraturliste

- Aslaksen, M. A., Kraugerud, O. F., Penn, M., Svihus, B., Denstadli, V., Jørgensen, H. Y., . . . Storebakken, T. (2007). Screening of nutrient digestibilities and intestinal pathologies in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with legumes, oilseeds, or cereals. *Aquaculture*, 272(1-4), 541-555. doi:doi:10.1016/j.aquaculture.2007.07.222
- Bell, J. G., McEvoy, J., Tocher, D. R., McGhee, F., Campbell, P. J., & Sargent, J. R. (2001). Replacement of Fish Oil with Rapeseed Oil in Diets of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Affects Tissue Lipid Compositions and Hepatocyte Fatty Acid Metabolism. *The Journal of Nutrition*, 131(5), 1535-1543. Retrieved from <https://doi.org/10.1093/jn/131.5.1535>. doi:10.1093/jn/131.5.1535
- Bendiksen, Å., Eldar., Johnsen, A., Chris., Olsen, J., Hanne , & Jobling, M. (2011). Sustainable aquafeeds: Progress towards reduced reliance upon marine ingredients in diets for farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 314(1-4), 132-139. doi:10.1016/j.aquaculture.2011.01.040
- Betancor, M. B., Sprague, M., Sayanova, O., Usher, S., Campbell, P. J., Napier, J. A., . . . Tocher, D. R. (2015). Evaluation of a high-EPA oil from transgenic *Camelina sativa* in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Effects on tissue fatty acid composition, histology and gene expression. *Aquaculture*, 444, 1-12. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26146421>. doi:10.1016/j.aquaculture.2015.03.020
- Booman, M., Forster, I., Vederas, J. C., Groman, D. B., & Jones, S. R. M. (2018). Soybean meal-induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) but not in pink salmon (*O . gorbuscha*). *Aquaculture*, 483, 238-243. doi:10.1016/j.aquaculture.2017.10.025
- Bou, M., Berge, G. M., Baeverfjord, G., Sigholt, T., Ostbye, T. K., Romarheim, O. H., . . . Ruyter, B. (2017). Requirements of n-3 very long-chain PUFA in Atlantic salmon (*Salmo salar* L): effects of different dietary levels of EPA and DHA on fish performance and tissue composition and integrity. *Br J Nutr*, 117(1), 30-47. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28112067>. doi:10.1017/S0007114516004396

- Braceland, M., Houston, K., Ashby, A., Matthews, C., Haining, H., Rodger, H., & Eckersall, P. D. (2017). Technical pre-analytical effects on the clinical biochemistry of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *J Fish Dis*, 40(1), 29-40. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27145526>. doi:10.1111/jfd.12476
- Eldar Åsgard Bendiksen, Chris André Johnsen, Hanne Jorun Olsen, & Jobling, M. (2011). Sustainable aquafeeds: Progress towards reduced reliance upon marine ingredients in diets for farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.).
- FAO. Code of Conduct for Responsible Fisheries. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-v9878e.htm>
- FAO. (2018). The State of World Fisheries and Aquaculture.
- FNs bærekraftsmål. (27.09.2015, 05.02.2019). Retrieved from <https://www.fn.no/Om-FN/FNs-baerekraftsmaal>
- Hofmann, A., & Hagey, L. R. (2008). Bile Acids: Chemistry, Pathochemistry, Biology, Pathobiology, and Therapeutics. *Cellular and Molecular Life Sciences*.
- Hu, H., Kortner, T. M., Gajardo, K., Chikwati, E., Tinsley, J., & Krogdahl, A. (2016). Intestinal Fluid Permeability in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) Is Affected by Dietary Protein Source. *PLoS One*, 11(12), e0167515. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27907206>. doi:10.1371/journal.pone.0167515
- Karalazos, V., Bendiksen, E. Å., & Bell, J. G. (2011). Interactive effects of dietary protein/lipid level and oil source on growth, feed utilisation and nutrient and fatty acid digestibility of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 311(1-4), 193-200. doi:10.1016/j.aquaculture.2010.11.022
- Katevas D, C. (2014). Krill Meal and Krill Oil. *Aquafeed* 6:12–21.
- Kousoulaki, K. (2018). Alger kan bli storindustri. Retrieved from <https://nofima.no/nyhet/2018/06/alger-kan-bli-storindustri/>.
- Liland, S., N., Rosenlund, G., Berntssen, G., H, M., Brattelid, T., Madsen, L., & Torstensen, E., B. (2013). Net production of Atlantic salmon (FIFO, Fish in Fish out < 1) with dietary plant proteins and vegetable oil. In *Aquaculture Nutrition* (pp. 289-300).
- Miles D, R., & Chapman A, F. (2015) The Benefits of Fish Meal in Aquaculture Diets. In: UF/IFAS Extension.
- Naylor, R. L., Hardy, R. W., Bureau, D. P., Chiu, A., Elliott, M., Farrell, A. P., . . . Nichols, P. D. (2009). Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proc Natl Acad Sci U S A*,

- 106(36), 15103-15110. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19805247>. doi:10.1073/pnas.0905235106
- NIFES, & Norsk Fiskeri- og Matforskning AS. (2016). Fett for fiskehelse - 2016 - Effekter av endret fettsyresammensetning i fôr til laks relatert til fiskens helse, velferd og robusthet.
- Olsen, R. E., Waagbø, R., Ringø, E., Melle, W., & Lall, S. P. (2010.). Alternative Marine Resources. In *Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds*. .
- Refstie, S., Korsøen, Ø. J., Storebakken, T., Bæverfjord, G., Lein, I., & Roem, J., Andries. (2000). Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*).
- Riaz, N., Mian. (2011). Texturized vegetable proteins. In *Handbook of food proteins* (pp. 395-418): Woodhead Publishing Series in Food Science.
- Ruyter, B., Mira, M. B., Bæverfjord, G., Østbye, T. Ø., Ytrestøyl, T., Bjerke, M., . . . Berge, G. (2016). Langtidseffekter av lave omega-3 nivåer i fôr på laksens helse.
- Ruyter, B., Rosjo, C., Einen, O., & Thomassen, M. S. (2000). Essential fatty acids in Atlantic salmon: effects of increasing dietary doses of n-6 and n-3 fatty acids on growth, survival and fatty acid composition of liver, blood and carcass. *Aquaculture Nutrition*, 6, 119-127.
- Sinha, K., Amit., Kumar, V., Makkar, S. P. H., De Boeck, G., & Becker, K. (2011). Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition – A review. *Food Chemistry*, 127(4), 1409-1426. doi:10.1016/j.foodchem.2011.02.042
- Sjømatråd, N. (2019). Eksport av norsk sjømat. Retrieved from <https://nokkeltall.seafood.no>
- Sprague, M., Betancor, M. B., & Tocher, D. R. (2017). Microbial and genetically engineered oils as replacements for fish oil in aquaculture feeds. *Biotechnol Lett*, 39(11), 1599-1609. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28721583>. doi:10.1007/s10529-017-2402-6
- 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. *Sci Rep*, 6, 21892. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26899924>. doi:10.1038/srep21892
- Stevenson, J. R., Irz, X. T., Alcalde, R.-G., Morrisens, P., & Petit, J. (2007). An Empirical Typology of Brackish-Water Pond Aquaculture Systems in the Philippines: A Tool to

- Aid Comparative Study in the Sector. *Aquaculture Economics & Management*, 11(2), 171-193. doi:10.1080/13657300701370358
- Sørensen, M., Berge, G. M., Reitan, K. I., & Ruyter, B. (2016). Microalga *Phaeodactylum tricornutum* in feed for Atlantic salmon (*Salmo salar*) —Effect on nutrient digestibility, growth and utilization of feed. *Aquaculture*, 460, 116-123. doi:10.1016/j.aquaculture.2016.04.010
- Sørensen, M., Berge, G. M., Thomassen, M., Ruyter, B., Hatlen, B., Ytrestøyl, T., . . . Åsgård, T. (2011a). *Today's and tomorrow's feed ingredients in Norwegian aquaculture*. Retrieved from Nofima, Rapport 52-2011 SWOT:
- Sørensen, M., Penn, M., El-Mowafi, A., Storebakken, T., Chunfang, C., Øverland, M., & Krogdahl, Å. (2011). Effect of stachyose, raffinose and soya-saponins supplementation on nutrient digestibility, digestive enzymes, gut morphology and growth performance in Atlantic salmon (*Salmo salar*, L). *Aquaculture*, 314(1-4), 145-152. doi:10.1016/j.aquaculture.2011.02.013
- Ulven, S. M., & Holven, K. B. (2015). Comparison of bioavailability of krill oil versus fish oil and health effect. *Vasc Health Risk Manag*, 11, 511-524. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26357480>. doi:10.2147/VHRM.S85165
- Ytrestøyl, T., Aas, T. S., & Åsgård, T. (2015). Utilisation of feed resources in production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Norway. *Aquaculture*, 448, 365-374. doi:10.1016/j.aquaculture.2015.06.023
- Aas, S., Turid, Sixten Jorun, H., Hillestad, M., Ytrestøyl, T., Sveier, H., & Åsgård, T. (2015). Feed intake and nutrient digestibility and retention in Atlantic salmon fed diets with different physical pellet quality.

Vedlegg 1.

Vevsprøvene er fra andre deler av forsøket og blir bare brukt som en illustrasjon og er ikke en del av det arbeidet jeg har gjort.

