

# MASTEROPPGAVE

Emnekode: AK306F

Navn: Ine Svendsen Meland

---

Smoltifisering hos atlantisk laks (*Salmo salar* L).  
Betydningen av lysstyring på osmoregulatorisk  
kapasitet, fiskevelferd og desmoltifisering.

---

Dato: 01.06.2021

Totalt antall sider: 67



## **Forord**

Denne masteroppgaven er skrevet som en avsluttende del av masterstudiet ved fakultetet for biovitenskap og akvakultur ved Nord universitet i Bodø. Oppgaven omfatter 60 studiepoeng, og ble avsluttet mai 2021.

Først vil jeg rette en stor takk til min veileder, Martin Haugmo Iversen, for all hjelp og faglig veiledning underveis. Din kompetanse og ditt engasjement har gjort dette til svært lærerike år. Jeg vil også takke min co-veileder Monica Brinchmann for god hjelp. Videre vil jeg rette en stor takk til John Sällebrant for muligheten til å delta på prosjektet. Takk for god opplæring og all hjelp underveis. Jeg vil også rette en takk til Silje Strømstad og Arne Ludvik Faaren for god hjelp under analysearbeidet. I tillegg vil jeg takke alle ansatte ved Mørkvedbukta forskningsstasjon.

Tusen takk til familien min og gode venner for all støtte og motiverende ord gjennom årene med studier.

Sist, men ikke minst: kjære medstudenter - tusen takk. Dere har gjort studietiden i Bodø til en uforglemmelig tid!

Bodø, mai 2021

Ine Svendsen Meland

# Innholdsfortegnelse

<b>Forord</b> .....	<b>ii</b>
<b>Figur- og tabelliste</b> .....	<b>v</b>
<b>Forkortelser</b> .....	<b>vi</b>
<b>Sammendrag</b> .....	<b>vii</b>
<b>Summary</b> .....	<b>viii</b>
<b>1.0 Introduksjon</b> .....	<b>1</b>
1.1 Bakgrunn .....	1
1.2 Atlantisk laks ( <i>Salmo Salar</i> L.) .....	2
1.3 Smoltifisering .....	2
1.4 Fysiologiske endringer .....	3
1.4.1 Osmoregulering hos atlantisk laks .....	3
1.4.2 Osmoregulerende organer .....	5
1.5 Morfologiske endringer .....	7
1.6 Atferdsmessige endringer .....	8
1.7 Endokrin kontroll .....	8
1.8 Påvirkning av miljøfaktorer på smoltifiseringsprosessen .....	10
1.8.1 Fotoperiode.....	10
1.8.2 Temperatur .....	11
1.9 Desmoltifisering .....	11
1.10 Kommersiell smoltproduksjon .....	11
1.10.1 Bruk av lysstyring i kommersiell smoltproduksjon .....	12
1.12 Problemstilling .....	12
<b>2.0 Metode</b> .....	<b>13</b>
2.1 Godkjenning av bruk av dyr i forsøk .....	13
2.2 Forsøksfisk .....	13
2.3 Forsøksoppsett.....	13
2.3.1 Fase 1 – vintersignal.....	13
2.3.2 Fase 2 – smoltifisering .....	13
2.3.3. Fase 3 – utsett.....	14
2.4 Prøveuttak.....	14
2.5 Beregning av spesifikk vekstrate og kondisjonsfaktor.....	15
2.5.1 Spesifikk vekstrate (SGR).....	15
2.5.2 Kondisjonsfaktor .....	15
2.6 Analyser .....	15
2.6.1 Vurdering av smoltindeks .....	15
2.6.2 Vurdering av velferdsskår .....	16
2.6.3 Osmolalitet .....	16
2.6.4 Plasmaioner .....	17
2.6.5 NKA-enzymaktivitet i gjeller.....	17
2.7 Statistisk analyse .....	18
<b>3.0 Resultat</b> .....	<b>19</b>

3.1 Vekst.....	19
3.1.1 Spesifikk vekstrate (SGR).....	19
3.1.2 Kondisjonsfaktor .....	20
3.2 Smoltindeks .....	21
3.3 Velferdsskåring .....	22
3.3.1 Aktive finneskader .....	22
3.3.2 Hudblødninger.....	23
3.3.3 Skjelltap.....	24
3.3 Osmolalitet .....	25
3.4 Plasmaioner .....	26
3.4.1 Plasmaklorid 8L:16M.....	26
3.4.2 Plasmaklorid 24L:0M.....	27
3.4.3 Plasmanatrium 8L:16M.....	28
3.4.4 Plasmanatrium 24L:0M.....	29
3.4.5 Plasmamagnesium 8L:16M.....	30
3.4.6 Plasmamagnesium 24L:0M.....	31
3.4.7 Plasmakalsium 8L:16M.....	32
3.4.8 Plasmakalsium 24L:0M.....	33
3.5 NKA-enzymaktivitet .....	34
3.6 Svimere etter sjøvannstest.....	35
<b>4.0 Diskusjon.....</b>	<b>36</b>
4.1 Vekst.....	36
4.2 Smoltindeks .....	37
4.3 Velferdsskåring .....	38
4.4 Osmoregulering – utvikling av sjøvannstoleranse .....	39
4.4.1 Osmolalitet .....	39
4.4.2 Plasmaioner .....	40
4.4.3 NKA-enzymaktivitet .....	42
4.5 Effekten av lysstyring på atlantisk laksesmolt .....	44
<b>5.0 Konklusjon.....</b>	<b>46</b>
<b>Referanser .....</b>	<b>47</b>

## Figur- og tabelliste

<b>Figur 1.</b> Antall solgt mengde og førstehåndsverdi av laks.....	1
<b>Figur 2.</b> Osmoregulatoriske prosesser i ferskvann.....	4
<b>Figur 3.</b> Osmoregulatoriske prosesser i sjøvann.....	5
<b>Figur 4.</b> Endringer i NKA $\alpha$ 1a og NKA $\alpha$ 1b i kloridceller under smoltifisering.....	6
<b>Figur 5.</b> Morfologiske endringer under smoltifisering.....	8
<b>Figur 6.</b> Hormonell regulering av smoltifisering.....	9
<b>Figur 7.</b> Skisse av forsøket.....	14
<b>Figur 8.</b> Morfologisk skåringssystem.....	16
<b>Figur 9.</b> Forenklet oversikt NKA-enzymaktivitet i gjeller.....	17
<b>Figur 10.</b> Gjennomsnittsvekt i forsøksperioden.....	19
<b>Figur 11.</b> Kondisjonsfaktor i forsøksperioden.....	20
<b>Figur 12.</b> Aktive finneskader i forsøksperioden.....	22
<b>Figur 13.</b> Hudblødninger i forsøksperioden.....	23
<b>Figur 14.</b> Skjelltap i forsøksperioden.....	24
<b>Figur 15.</b> Gjennomsnittlig osmolalitet i forsøksperioden.....	25
<b>Figur 16.</b> Gjennomsnittlig plasmaklorid (8L:16M) i forsøksperioden.....	26
<b>Figur 17.</b> Gjennomsnittlig plasmaklorid (24L:0M) i forsøksperioden.....	27
<b>Figur 18.</b> Gjennomsnittlig plasmanatrium (8L:16M) i forsøksperioden.....	28
<b>Figur 19.</b> Gjennomsnittlig plasmanatrium (24L:0M) i forsøksperioden.....	29
<b>Figur 20.</b> Gjennomsnittlig plasmamagnesium (8L:16M) i forsøksperioden.....	30
<b>Figur 21.</b> Gjennomsnittlig plasmamagnesium (24L:0M) i forsøksperioden.....	31
<b>Figur 22.</b> Gjennomsnittlig plasmakalsium (8L:16M) i forsøksperioden.....	32
<b>Figur 23.</b> Gjennomsnittlig plasmakalsium (24L:0M) i forsøksperioden.....	33
<b>Figur 24.</b> Gjennomsnittlig NKA-enzymaktivitet i forsøksperioden.....	34
<b>Figur 25.</b> Antall svimere etter sjøvannstester i forsøksperioden.....	35
<b>Tabell 1.</b> Smoltindeks.....	15
<b>Tabell 2.</b> Spesifikk vekstrate (SGR).....	20
<b>Tabell 3.</b> Gjennomsnittlig smoltindeks i forsøksperioden.....	21

## Forkortelser

<b>AC</b>	Støtteceller	<b>8L:16M</b>	8 timer lys, 16 timer mørke
<b>ACTH</b>	Adrenokortikotrop hormon	<b>24L:0M</b>	24 timer lys, 0 timer mørke
<b>ADP</b>	Adenosin-5'-difosfat		
<b>ATP</b>	Adenosin-5'-trifosfat		
<b>CaBP</b>	Kalsiumbindende protein		
<b>CFTR</b>	Cystisk fibrose transmembran regulator		
<b>CT</b>	Kalsitonin		
<b>D</b>	Domestisert		
<b>DL</b>	Domestisert lysmanipulert		
<b>GFR</b>	Glomerulær filtreringsrate		
<b>GH</b>	Veksthormon		
<b>IB</b>	Imidazole buffer		
<b>IGF-1</b>	Vekstfaktor 1		
<b>LBP</b>	Lys-hjerne-hypofyseaksen		
<b>LHD</b>	Lactic dehydrogenase		
<b>NADH</b>	Nikotinamid adenin dinukleotid		
<b>NKA</b>	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase		
<b>NKCC</b>	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> /2Cl <sup>-</sup> -kotransporter		
<b>PEP</b>	Phosphoenolpyruvat		
<b>Pi</b>	Uorganisk fosfat		
<b>PK</b>	Pyruvat kinase		
<b>POA</b>	Preoptisk område		
<b>PTH</b>	Paratyreoideahormon		
<b>PVC</b>	Epitelceller		
<b>SGR</b>	Spesifikk vekstrate		
<b>T<sub>3</sub></b>	Triiodtyronin		
<b>T<sub>4</sub></b>	Tyroksin		
<b>TSH</b>	Thyreoideastimulerende hormone		
<b>VDR</b>	Vitamin D <sub>3</sub> kjernereseptor		
<b>WR</b>	Working Reagent		

## Sammendrag

Dødelighet i oppdrettsnæringen har de siste årene vært et mye debattert tema. Tap av fisk i norsk oppdrettsnæring er fortsatt høyt til tross for lang erfaring. Av et utsett på omtrentlig 300 millioner smolt i 2020, ble 52,1 millioner rapportert som dødfisk. Flere rapporter knytter dødelighet av smolt i tidlig sjøfase opp mot smoltkvalitet. Med smoltkvalitet som den viktigste innsatsfaktoren, er det av avgjørende betydning å inneha god kontroll på smoltifiseringsprosessen. Utvikling av fundamentale fysiologiske, morfologiske samt atferdsmessige egenskaper er grunnleggende for forberedelsen til et liv i det marine miljø. Eksponering for en økende fotoperiode antas å være den mest avgjørende miljøfaktoren for å indusere disse endringene hos atlantisk laks. Korte dager (vintersignal) etterfulgt av stadig lengre dager ser ut til å være en viktig «zeitgeber» (tidsgiver) for utvikling av sjøvannstoleranse med avgjørende betydning for videre vekst og overlevelse i sjø.

Målet med denne studien er å undersøke i hvilken grad lysmanipulering påvirker smoltutviklingen hos atlantisk laks. 750 domestisert atlantisk lakseparr (*Salmo salar* L.; AquaGen QTL-Innova SHIELD) ble benyttet under forsøket og eksponert for to ulike fotoperioder. Den ene gruppen ble gitt kontinuerlig lysstyring (24L:0M) gjennom hele forsøksperioden, mens den andre gruppen ble eksponert for en «vinterbelysning» (8L:16M) i seks uker, etterfulgt av kontinuerlig lys (24L:0M). Det ble i forsøksperioden utført 11 prøveuttak fordelt på 0 D, 14 D, 28 D, 42 D, 56 D, 70 D, 84 D, 98 D, 112 D, 126 D og 154 D. Det ble gjennomført 48 timer sjøvannstester, etterfulgt av måling av plasma  $\text{Cl}^-$ ,  $-\text{Na}^+$ ,  $-\text{Mg}^{2+}$  og  $-\text{Ca}^{2+}$  samt osmolalitet i tillegg til analyse av NKA-enzymaktivitet hos begge grupper av fisk. Resultatene fra studien viste en utvikling av forbedret osmoregulerende kapasitet hos begge gruppene sammenlignet med forsøksstart. Utviklingen var i midlertidig mer fullstendig hos gruppen eksponert for en vinterperiode som synes å forlenge perioden smolten har en optimal osmoreguleringskapasitet, og forsinke desmoltifiseringen. Resultatene sammenfaller med tidligere observasjoner for atlantisk laks, og indikerer at lysmanipulering for utvikling av en fullverdig smolt er en god strategi for å optimalisere videre vekst og velferd i sjøfasen.



## Summary

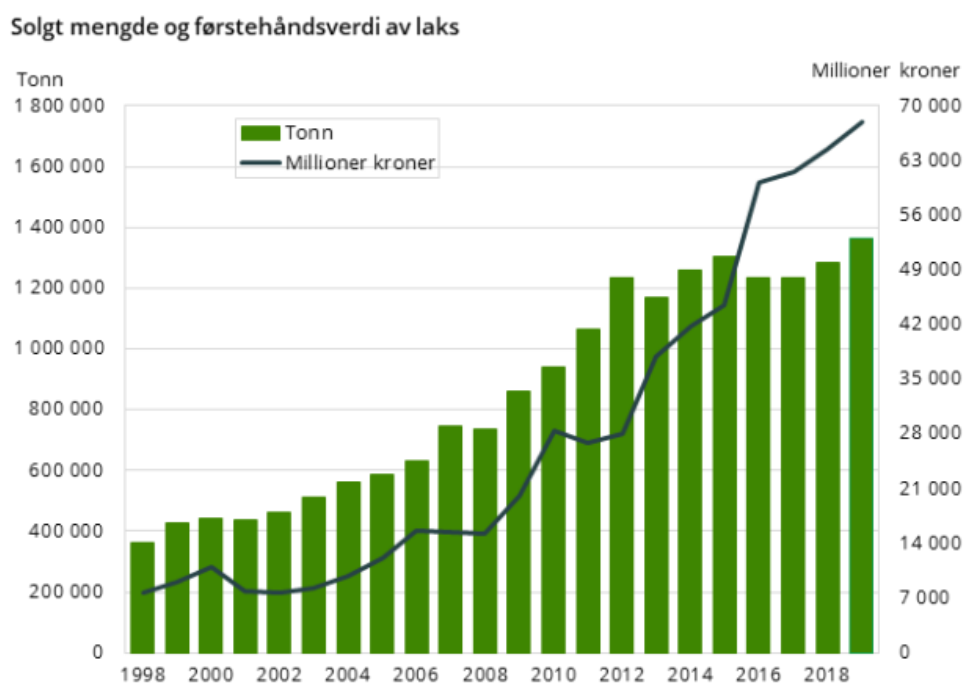
Mortality in the aquaculture industry has been a controversial topic in recent years, and even though Norway has a long experience in the aquaculture industry, the loss of fish is still high. Of approximately 300 million smolts released in 2020, 52,1 million were reported as dead fish. Several research papers link the mortality of smolt in the early sea phase to smolt quality. With smolt quality as the essential input factor, it is crucial to control the smoltification process. The development of fundamental physiological, morphological and behavioral properties is elementary for preparing for life in the marine environment. Exposure to an increasing photoperiod is thought to be the most crucial environmental factor in inducing these changes in Atlantic salmon. Short days (winter signal) followed by increasingly longer days are considered as an important “zeitgeber” (timer) in developing of seawater tolerance of vital importance for further growth and survival at sea.

The aim of the present study is to investigate to which extent light manipulation affects the smolt development of Atlantic salmon. 750 domesticated Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.; AquaGen QTL-Innova SHIELD) were used during the experiment and exposed for two different photoperiods. One group was subjected to continuous light (24L:0M) throughout the experiment, while the other group was subjected to a “winter signal” (8L:16M) for six weeks, followed by continuous light (24L:0M). During the experimental period there were performed 11 samplings divided into 0 D, 14 D, 28 D, 42 D, 56 D, 70 D, 84 D, 98 D, 112 D, 126 D and 154D. There were performed 48 hour seawater tests, followed by measurement of plasma Cl<sup>-</sup>, -Na<sup>+</sup>, -Mg<sup>2+</sup> and -Ca<sup>2+</sup> as well as osmolality in addition to analysis of NKA enzyme activity in both groups of fish. The results from the study showed a developed improved osmoregulatory capacity in both groups compared to the start of the experiment. However, the development was greatest in the group exposed to a winter signal which seems to prolong the period smolt has an optimal osmoregulation capacity and delay the desmoltification. The results correlate with earlier observations for Atlantic salmon and indicate that light manipulation is a good strategy to optimize further growth and welfare in the sea water phase in order to provide an optimal smolt.

# 1.0 Introduksjon

## 1.1 Bakgrunn

Norsk havbruk har siden den spede oppstart på 1970-tallet opplevd en nærmest eventyrlig utvikling. I dag representerer havbruksindustrien globalt en av de raskest voksende matproduserende sektorene, og den blå revolusjonen er en verdensomfattende kilde til arbeidskraft og verdiskapning. Antall tonn laks produsert her til lands har økt fra i underkant av 400 000 i 1998 til over 1 400 000 tonn i 2019 (figur 1). Myndighetenes målsetting innebærer en ytterligere femdobling av lakseproduksjonen frem mot 2050, sammenlignet med 2010 (Norsk Industri., u.å.). Følgende økning i produksjonsvolum forutsetter et høyt kunnskapsnivå i tillegg til en sammensatt produksjon (Nærings- og fiskeridepartementet., 2015).



**Figur 1:** Antall solgt mengde og førstehandsverdi av laks i perioden 1998 – 2019. Figur hentet fra Statistisk sentralbyrå (2020).

Dødeligheten i oppdrettsnæringen har de siste årene vært et mye debattert tema. Tap av fisk i norsk oppdrettsnæring er fortsatt høyt til tross for lang erfaring og et stort ressursbruk rettet mot en bærekraftig produksjon. Det samlede tapstallet i sjø for 2016 og 2017 ble beregnet til 53 millioner laks, som var omtrentlig på samme nivå som 2018, hvorav død fisk utgjorde hele 87,2% av det samlede tapstallet (Hjeltnes, 2019). Også i 2020 er det totale tapet av oppdrettslaks i sjøfasen høyt. Av et utsett på omtrentlig 300 millioner smolt, ble 52,1 millioner rapportert som dødfisk. I tillegg dør et tilsvarende antall i kategorien settefisk (Brun, 2021; Sommerset, 2021). Den vedvarende høye dødeligheten kommer verken fisken eller næringen til gode. Flere

rapporter har knyttet dødelighet av smolt i tidlig sjøfase opp mot smoltkvalitet (Hjeltnes mfl., 2019; Mattilsynet., 2011, 2014). Smoltkvalitet er en av de viktigste innsatsfaktorene innen norsk lakseoppdrett, og er en forutsetning for et sluttprodukt av høy kvalitet. Det er av avgjørende betydning å inneha god kontroll på smoltifisering for å tilstrebe god smoltkvalitet, og legge til rette for en best mulig fisk gjennom hele produksjonssyklusen (Gu & Grønbech, 2019).

## **1.2 Atlantisk laks (*Salmo Salar L.*)**

Atlantisk laks (*Salmo salar L.*) forekommer naturlig på den nordlige havkule innenfor tempererte og subarktiske regioner. I likhet med andre salmonider som *Oncorhynchus sp.*, *Salmo sp.* og *Salvelinus sp.*, har arten utviklet komplekse fysiologiske tilpasninger som tillater overlevelse i både ferskvann og sjøvann. Denne anadrome tilpasningen innebærer en nedstrøms migrering til det næringsrike havet for å vokse og modnes, en livsstrategi som medfører en transformasjon fra strømlevende parr i ferskvann til havvandrende smolt i sjøvann (McCormick & Saunders, 1987; Thorstad mfl., 2011). Yngel av atlantisk laks starter reisen på våren og vandrer ut i havet hvor den tilbringer de neste ett til fire årene. Livssyklusen fullføres i det den kjønnsmodne laksen starter gytevandring tilbake til elva den ble født (McCormick mfl., 1998). Migreringen representerer et kritisk samspill mellom atferd og fysiologi, gitt de mange utfordringer og barrierer som møter fisken underveis (Cooke mfl., 2011). Reisen og dens medfølgende endringer har fascinert biologer i århundrer, og overgangen fra ferskvann til sjøvann innebærer adaptive endringer i morfologi, fysiologi og atferd. Disse endringene kalles smoltifisering, og er et komplekst fenomen hvor ferskvannsfisk går fra å være hyperosmotisk i ferskvann til hypoosmotisk i sjøvann (McCormick, 2013; Thorstad mfl., 2011).

## **1.3 Smoltifisering**

Smoltifisering er en preadaptert prosess bestående av en rekke fysiologiske, morfologiske og atferdsmessige tilpasninger, som lakseyngel (parr) gjennomgår i ferskvann med den hensikt å forberede migrasjonen til det marine miljø (McCormick & Saunders, 1987). Disse forberedelsene er av avgjørende betydning for å maksimere suksessen av en livshistoriestrategi som involverer endring fra et hypoosmotisk til hyperosmotisk medium, og tilbake. Mange av disse preadapterte endringene kan være skadelig hvis yngelen forblir i ferskvann, og det er derfor ikke overraskende at smoltifiseringsrelaterte endringer reverseres relativt raskt (desmoltifisering) dersom fisken ikke eksponeres for marint miljø i løpet av perioden som fullstendig smolt (smoltvinduet). Desmoltifisering fremskyndes av avtagende fotoperiode, og av økende ferskvannstemperaturer, og inkluderer tap av den hypoosmoregulerende evnen i

sjøvann (Stefansson mfl., 2008). Under naturlige forhold er smoltifisering en sesongmessig prosess som vanligvis forekommer sent på våren. Manipulasjon av enkelte komponenter kan resultere i ufullstendig transformasjon samt reduksjon av potensialet for utnyttelse og overlevelse i det marine miljø. Smoltifiseringsprosessen stimuleres av endogene rytmer synkronisert av ytre forhold (McCormick & Saunders, 1987; Stefansson mfl., 2008), og innebærer interaksjoner mellom flere endokrine systemer (Björnsson mfl., 2011).

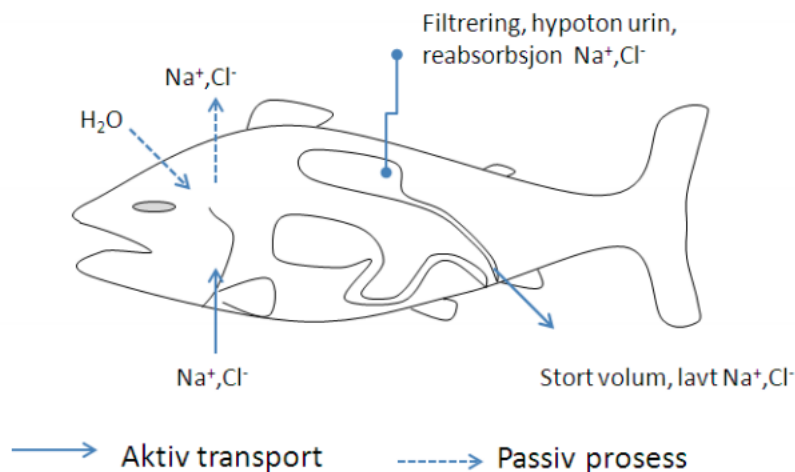
#### **1.4 Fysiologiske endringer**

Et av de viktigste elementene innenfor smoltifisering er utviklingen av hypoosmoreguleringsevne i sjøvann. Parr har relativt dårlig sjøvannstoleranse hvorav direkte overføring til sjøvann vil resultere i kritiske ionisk og osmotisk forstyrrelser, redusert vekst, fiskevelferd og økt dødelighet (Stefansson mfl., 2008). Beinfisk (teleost) opprettholder en nærmest konstant intern osmolalitet uavhengig av deres ytre miljø, i de fleste tilfeller mellom 290-340 mOsm kg<sup>-1</sup>. Ferskvann og sjøvann har en osmolalitet på henholdsvis 0-10 mOsm kg<sup>-1</sup> og 1000 mOsm kg<sup>-1</sup>. Salinitet angir mengde oppløst salt i vann, hvorav ferskvann og sjøvann har en salinitet på henholdsvis 0‰ og 33-35‰. Evnen til å absorbere vann og skille ut salter er av avgjørende betydning for overlevelsen av havvandrende smolt (Evans, 2008; Evans mfl., 2005).

Fisk har utviklet tre grunnleggende strategier for å opprettholde reguleringen av vann- og saltbalansen (osmoregulering) i ekstracellulære væsker (blodplasma, intestinal væske og lymfevæske). Disse omtales som osmokonform, hyperosmotisk og hypoosmotisk regulering. Osmokonform fisk opprettholder osmolaliteten i ekstracellulære væsker lik det omkringliggende miljøet. Fisk som er hyperosmotisk opprettholder sin indre osmolalitet høyere enn det omkringliggende miljøet. Tilsvarende opprettholder hypoosmotisk fisk den indre osmolaliteten lavere enn miljøet rundt. Anadrome arter, slik som atlantisk laks, veksler mellom hyper- og hypoosmotisk miljø i henhold til migrasjonen fra ferskvann til sjøvann, og tilbake (Edwards & Marshall, 2012; McCormick, 2013; Noble mfl., 2018).

##### **1.4.1 Osmoregulering hos atlantisk laks**

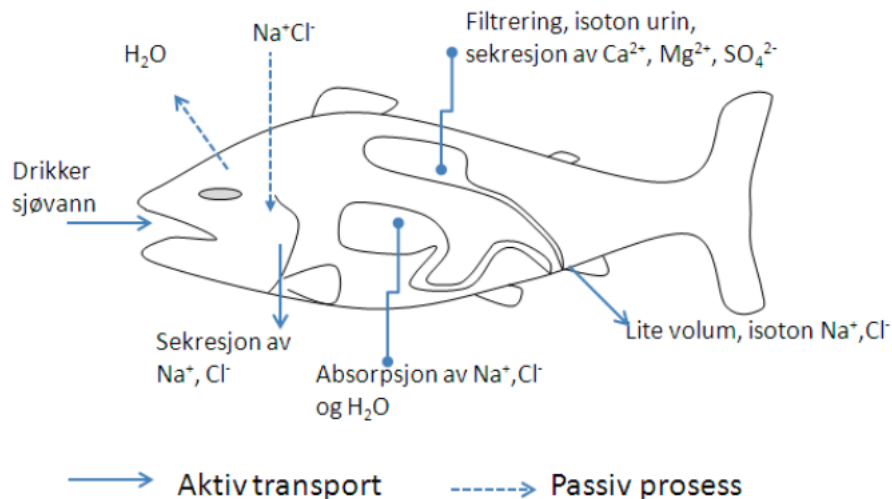
Laks i ferskvann er hyperosmotisk til omgivelsene, og står dermed ovenfor et passivt diffusjonstap av ioner, primært natrium (Na<sup>+</sup>) og klorid (Cl<sup>-</sup>), samt en osmotisk gevinst av vann over gjelleepitelet og andre ytre permeable overflater. Dette motvirkes ved aktivt opptak av ioner over gjelleepitelet fra omgivelsene, i tillegg til produksjon av store mengder fortynnet urin som skilles ut over nyrene og urinblæren (figur 2) (McCormick mfl., 2009).



**Figur 2:** Skjematisk oversikt over viktige osmoregulatoriske prosesser hos teleoster i ferskvann. Figur hentet fra Jakobsen (2013).

Ulik regulering av salt- og vannbalansen hos laks i ferskvann og sjøvann krever forskjellig strukturelle og hensiktsmessige egenskaper i de to omgivelsene. For å minimalisere innstrømmingen av vann samt tap av ioner, innehar gjellemembraner lav vann- og ionepermeabilitet hos fisk i ferskvann, hvor cellene er forent med lite rom mellom cellene ved såkalte tette kanaler («tight junctions») (Heggberget mfl., 1992).

I motsetning til laks i ferskvann, er laks i sjøvann hypoosmotisk til omgivelsene, og er i en konstant tilstand av forestående dehydrering. Dette motvirkes ved å drikke sjøvann for å opprettholde osmotisk balanse gjennom absorpsjon av salt og vann over tarmkanalen, mens overskudd av  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  hovedsakelig skilles ut aktivt over gjelleepitelet, samt nyrene. De divalente ionene magnesium ( $\text{Mg}^{2+}$ ), kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) og sulfat ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) skilles ut i svært lave mengder urin og via feces (figur 3) (McCormick mfl., 2009). Færre bindingsstrukturer gjør sammenbindingene mellom celler hos fisk i sjøvann langt svakere. Disse forbindelsene benevnes som lekkende kanaler («leaky junctions»), og medfører en mer åpen gjellemembran hos sjøvannstilvendt fisk (Heggberget mfl., 1992).



**Figur 3:** Skjematisk oversikt over viktige osmoregulatoriske prosesser hos teleoster i sjøvann. Figur hentet fra Jakobsen (2013).

### 1.4.2 Osmoregulerende organer

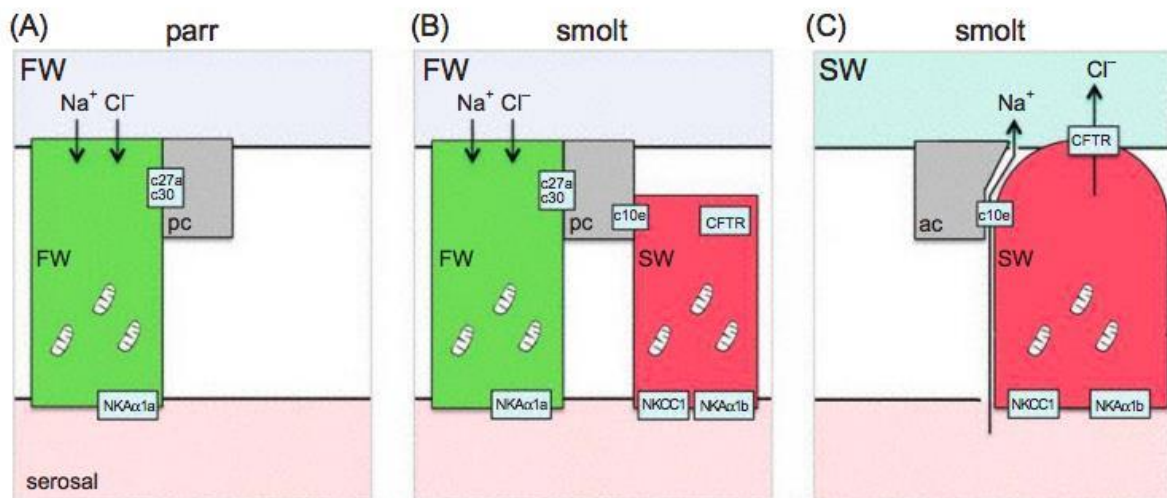
#### Gjeller

Gjellene hos teleoster er et multifunksjonelt organ med avgjørende betydning for opprettholdelse av osmotisk likevekt (homeostase). I tillegg er gjellene det primære stedet for syrebaseregulering, utskillelse av nitrogenholdig avfall samt det viktigste stedet for gassutveksling (Edwards & Marshall, 2012; Evans mfl., 2005). Gjellene hos laks er lokalisert lateralt i den bakre delen av munnhulen, og er ikledd fire gjellebuer med mellomliggende gjellespalter. Gjellebuene består av en rekke primære gjellelameller, også kalt gjellefilamenter, som igjen er bekledd av sekundærlameller. Gjelleepitelet, som dekker filamentene og lamellene, består av flere forskjellige celletyper, inkludert epitelceller (PVC) som utgjør over 90% av cellepopulasjonen, i tillegg til såkalte kloridceller, også omtalt som ionocytter eller mitokondrierike celler (<10%). De spesialiserte kloridcellene anses å være det primære stedet for aktive fysiologiske prosesser i gjellene, inkludert ionetransport over cellemembraner. I sjøvannsepitel danner kloridcellene og tilstøtende støtteceller (AC) klynger som åpner seg i en apikal krypt, overlappet av omkringliggende PVC (Evans, 2011; Evans mfl., 2005; Hwang & Lin, 2013); Kryvi, 1992; Reite, Staurnes & Sigholt, 1992).

I likhet med terrestriske virveldyr, må teleoster opprettholde intern homeostase for å muliggjøre normal drift av cellefunksjoner og celleaktiviteter. Gjellene er unike for sitt innhold av kloridceller som skiller ut og absorberer ioner i henholdsvis sjøvann og ferskvann for å opprettholde kontroll over den indre salt- og vannbalansen (Evans mfl., 2005; Hwang mfl., 2011). Den nåværende modellen for sekresjon av ioner hos laks i sjøvann inkluderer tre ulike

transportproteiner:  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase (NKA) og  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ -kotransporter (NKCC) lokalisert i den basolaterale membran, samt cystisk fibrose transmembran regulator (CFTR) lokalisert i den apikale membran (Marshall, 2002; McCormick mfl., 2009). NKA er et av de mest studerte transportproteinene, og det har lenge vært kjent at NKA-enzymaktiviteten øker i smolt sammenfallende med utviklingen av sjøvannstoleranse, og er en nødvendighet for tilpasning av saltbalansen (Hwang & Lee, 2007; McCormick, 2013; Zaugg & McLain, 1970). NKA bytter tre intracellulære  $\text{Na}^+$ -ioner mot to ekstracellulære  $\text{K}^+$ -ioner, noe som resulterer i en netto negativ ladning, samt et lavt natriuminnhold inne i cellen. Deretter bruker NKCC natriumgradienten for å bringe klorid inn i cellen, og den elektrokjemiske gradienten opprettet av NKA lar klorid forlate cellen passivt gjennom apikal CFTR (McCormick mfl., 2009).

NKA består av to essensielle underenheter ( $\alpha$  og  $\beta$ ), hvor det hos atlantisk laks er demonstrert to isoformer av den katalytiske underenheten  $\text{NKA}\alpha$ . Denne underenheten har bindingssteder for  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , ATP og ouabain (en enzyminhibitor spesifikk for NKA) (McCormick mfl., 2013).  $\text{NKA}\alpha 1a$  forekommer primært i ferskvann, og er til stede i både filamentale og lamellære kloridceller.  $\text{NKA}\alpha 1b$  forekommer hovedsakelig i sjøvann, men er til stede ved lave nivåer i ferskvann hvor den er lokalisert i små filamentale kloridceller. Under smoltifisering øker mengden  $\text{NKA}\alpha 1b$  mRNA i samspill med økende sjøvannstoleranse, mens mengden  $\text{NKA}\alpha 1a$  avtar (figur 4) (McCormick, 2013; McCormick mfl., 2009; Nilsen mfl., 2007).



**Figur 4:** Skjematiske fremstillinger av endringer i  $\text{NKA}\alpha 1a$  og  $\text{NKA}\alpha 1b$  i kloridceller under smoltifisering. (A)  $\text{NKA}\alpha 1a$  dominerer hos parr i ferskvann. (B) Antallet  $\text{NKA}\alpha 1b$  øker under smoltifisering. (C) Etter eksponering for sjøvann øker mengden  $\text{NKA}\alpha 1b$  ytterligere, samtidig som  $\text{NKA}\alpha 1a$  gradvis avtar. Figur hentet fra McCormick (2013).

## Nyrer

Nyrer hos teleoster lokaliseres dorsalt for bukhulen, uten tydelig segmentering. Nefroner utgjør store deler av nyrevevet, hvorav hvert nefron består av filtrerende glomerulus, i tillegg til proksimal tubulus og distal tubulus. Marine teleoster har færre og mindre glomeruli enn ferskvannsteleoster (Kryvi & Poppe, 2016).

Kroppsvæsken hos laks i ferskvann er i besittelse av et langt høyere innhold av ioner enn det omkringliggende miljøet. Høy glomerulær filtrerings- (GFR) og urinstrømhastighet gjenspeiler behovet for eliminering av overflødig vann hos ferskvannsfisker. I tillegg tjener den høye urinstrømmen fisken til å kvitte seg med metabolske avfallsprodukter. De dominerende elektrolyttene hos teleoster i ferskvann er  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  (Marshall & Grosell, 2006). I sjøvann har laks en kroppsvæske med langt lavere innhold av ioner, samt en lavere osmolalitet enn omgivelsene. Det orale inntaket av væske fra marine teleoster utgjør i tillegg en divalent ionebelastning som må utskilles gjennom nyre- og branchiale mekanismer (Heggberget mfl., 1992). Marine teleoster har lav GFR og urinstrømhastighet, hvor konsentrasjonen ligner ekstracellulære væsker. De viktigste elektrolyttene hos teleoster i sjøvann er  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  og  $\text{SO}_4^{2-}$  (Edwards & Marshall, 2012; Marshall & Grosell, 2006).

## Den gastrointestinale trakt

Den gastrointestinale trakt spiller en viktig rolle i osmoregulering hos fisk, delvis grunnet fordøyelsens forutsetning for sekresjon og absorpsjon av elektrolytter. Hos teleoster omfatter fordøyelsiskanalen munn-, gjellehule, svelg, spiserør (oesophagus), magesekk (ventrikkel), blindsekker (pylorus), midttarm og baktarm. Under smoltifisering skjer en ytterligere økning i væskeabsorpsjonen. Den osmoregulerende reguleringen i sjøvann starter med avsalting i spiserøret, og etterfølges av tarmabsorpsjon og sekresjonsprosesser som resulterer i rektal væskeutgang. Utskillelse av hydrogenkarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ) i den bakre del av tarmen sørger for utfelling av  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  og  $\text{SO}_4^{2-}$  i tarmlumen, som dernest skilles ut via feces. En reduksjon i osmolalitet muliggjør ytterligere vannopptak for å kompensere for det osmotiske tapet (Edwards & Marshall, 2012; Kryvi & Poppe, 2016; Marshall & Grosell, 2006).

## 1.5 Morfologiske endringer

Morfologiske forskjeller mellom parr og smolt er markante (figur 5). Under smoltifisering reduseres de karakteristiske, vertikale fingermerkene, også kjent som «parrmerker» samt prikkene langs lateralsiden. I tillegg endrer parren seg fra å være grønn/brun-farget til å utvikle



jevn sølvdrakt med mørke finnekantene og en mørkere dorsalside med en tilnærmet hvit ventralside (Johnston & Eales, 1967; McCormick, 2013).



*Figur 5: Forskjell i morfologi mellom parr (øverst) og smolt (nederst). Legg merke til de vertikale parrmerkene og prikkene på lateralsiden hos parr, samt tilstedeværelsen av intens sølvdrakt samt mørkere dorsalside og finnekantene hos smolt. Figur hentet fra McCormick (2013).*

Videre observeres en slankere kropp, redusert kondisjonsfaktor (K-faktor), som følge av de energiske kravene til smoltutviklingen. Dette innebærer økt basal metabolsk hastighet, økt aktivitet og redusert lipidinnhold (McCormick, 2013; McCormick & Saunders, 1987).

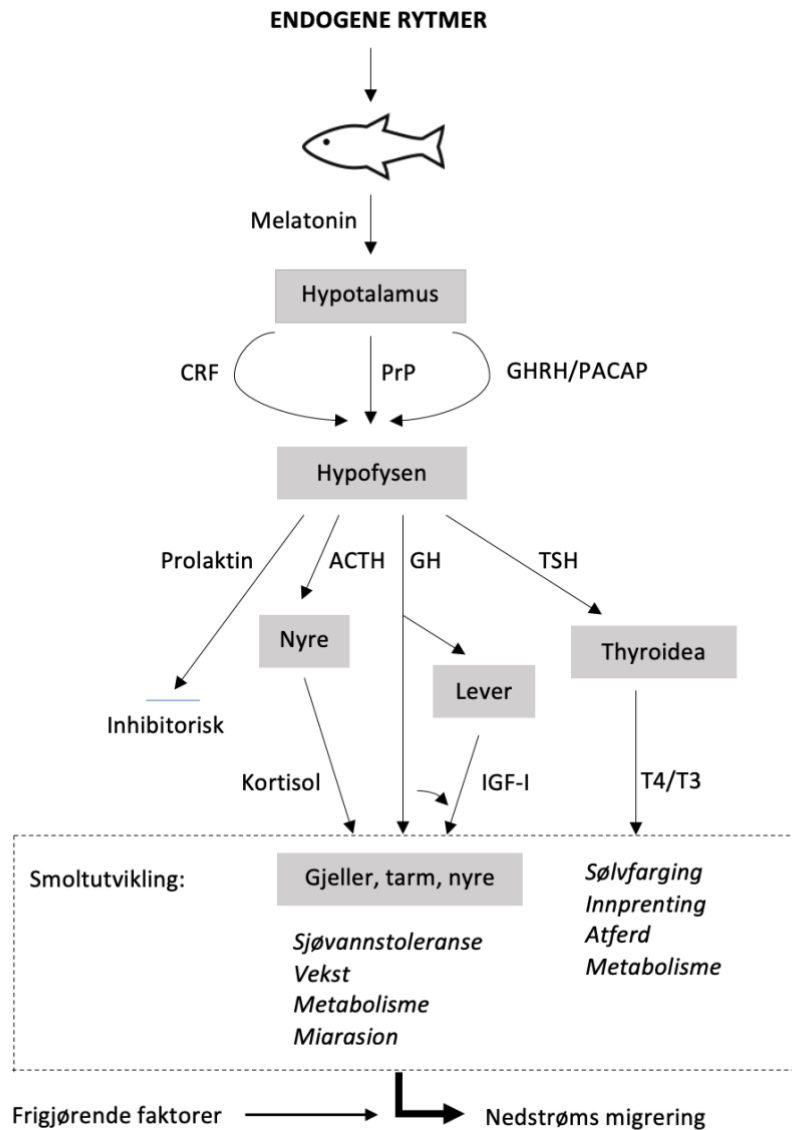
### **1.6 Atferdsmessige endringer**

Den bunnlevende parren har en instinktiv tendens til å svømme motstrøms, i tillegg til en aggressiv, territoriell og revirhevende atferd. Parallelt med smoltutviklingen avtar evnen til å svømme motstrøms til fordel for mer vilkårlig svømming, og smolten forlater bunnen som følge av økt oppdrift. I tillegg utvikles en mer «ekstrovert» atferd hvor smolt søker sammen i stim (Heggberget mfl., 1992).

### **1.7 Endokrin kontroll**

Det endokrine system hos teleoster innebefatter et spesialisert kommunikasjonssystem som regulerer samt synkroniserer flere vitale fysiologiske prosesser mellom endokrine organer og målcelle(r) (Kryvi & Poppe, 2016). Under smoltifiseringsprosessen skjer det en kraftig økning i den endokrine aktiviteten. Det nevroendokrine systemet fungerer som den primære koblingen mellom miljøendring og fysiologisk respons, og er en kritisk del av den osmoregulatoriske tilpasningen (McCormick, 2001). Lysstyrte biorytmer tilknyttet endringer i fotoperiode stimulerer lysinhibert frigivelse av melatonin fra pinealkjertelen som igjen stimulerer hypotalamus. Frigjøringshormoner som følge av den sekretoriske aktiviteten fra hypotalamus stimulerer hypofysen til utskillelse av veksthormon (GH), adrenokortikotrop hormon (ACTH), thyreoideastimulerende hormon (TSH), samt prolaktin (Heggberget mfl., 1992; McCormick, 2013). Videre stimulerer ACTH interrenalceller i nyren til utskillelse av kortisol, mens TSH

stimulerer skjoldbruskkjertelen (thyreoidea) til frigjøring av tyroksin (T<sub>4</sub>) og trijodtyronin (T<sub>3</sub>). GH stimulerer leveren til utskillelse av insulinlignende vekstfaktor 1 (IGF-1) (figur 6) (McCormick, 2013).



**Figur 6:** Skjematiske oversikt over hormonell regulering av smoltifisering hos atlantisk laks. CRF: corticotropin-releasing factor; PrP: prolactin-releasing peptide; GHRH: growth hormone-releasing hormone; PACAP: pituitary adenylate cyclase-activating peptide; ACTH: adrenokortikotrop hormon; GH: veksthormon; TSH: thyreoideastimulerende hormon; IGF-1: insulinlignende vekstfaktor 1; T<sub>4</sub>: tyroksin; T<sub>3</sub>: trijodtyronin. Figur tegnet etter McCormick (2013).

Under smoltifisering sees et betydelig forhøyet nivå av både GH og kortisol som induserer store endringer i osmoregulerende kapasitet ved stimulert utvikling av kloridceller i tillegg til endring av tarmens osmoregulatoriske funksjon. Dette muliggjør kompensasjon av osmotisk vanntap i det marine miljø gjennom opptak av sjøvann, med påfølgende ekstrudering av monovalente og divalente ioner ved henholdsvis gjeller og nyrer. Dette inkluderer økt sjøvannstoleranse i tillegg til endringer i tarmens osmoregulatoriske funksjon, samt endringer i vekst og metabolisme. Det

sees også et forhøyet nivå av thyreoideahormoner under smoltifiseringsprosessen, som innehar roller i både morfologiske og atferdsmessige endringer, herunder forsølvning og nedstrøms migrasjon (figur 6) (Björnsson mfl., 2011).

## **1.8 Påvirkning av miljøfaktorer på smoltifiseringsprosessen**

### **1.8.1 Fotoperiode**

Sesongmessige endringer i fotoperiode er hos flere laksefisk, inkludert atlantisk laks, vist å være den viktigste miljøfaktoren for synkronisering av fysiologiske, morfologiske og atferdsmessige aspekter ved smoltifisering (Hoar, 1988; McCormick, 2013; Stefansson mfl., 2008). Endringer i fotoperiode formidles gjennom lys – hjerne – hypofyseaksen (LBP), som omfatter nevralt baner mellom fotoreseptororganer, hjernen og hypofysen (Ebbesson mfl., 2003). Formidlingen av fotoperiode til endokrine systemer involverer påfølgende hormonstimulering som regulerer funksjoner til vev involvert i smoltifiseringsprosessen (Stefansson mfl., 2007).

Lysreseptorer hos teleoster er lokalisert i retina og pinealorganet som overfører lyssignal (både varighet og styrke) gjennom nevroner til sentrale hjerneregioner, blant annet til det preoptiske området (POA). Her innlemmes informasjonen med annen nevralt input, og videreformidles så til hypofysen som regulerer frigivelse av hormoner (Ebbesson mfl., 2007; Holmqvist mfl., 1992, 1994). Pinealorganet produserer mesteparten av hormonet melatonin. Utskillelsen av dette hormonet foregår under mørke. Melatonin brytes ned i blodet når lys treffer pinealorganet eller retina, og utskillelsen stanser. Hormonsyntesen hemmes dermed ved lang fotoperiode, mens en lengre mørkeperiode medfører økt syntese og sekresjon, noe som gjør fisken i stand til å skille ulike årstider fra hverandre (McCormick, 2013; Stefansson mfl., 2005).

Av det brede spekteret av hormoner som er kjent for å være involvert i smoltifisering, har kortisol, GH og thyreoideahormoner alle vist å være responderende for endringer i fotoperiode, særlig GH som potensielt kan forårsake en kaskade av andre endokrine hendelser (McCormick, 2013; Stefansson mfl., 2008). En vellykket smoltifisering innebærer at parren må nå en viss størrelse for initiering av smoltifiseringsprosessen. Hos atlantisk laks er denne terskelstørrelsen vist å være omtrent 10-15 cm (McCormick mfl., 1987). Vesentlige endringer i plasmakortisol og GH skjer ikke hos atlantisk lakseparr som er størrelsesmessig for liten til å gjennomgå smoltifisering. Fisk som har nådd den kritiske størrelsen for smoltifisering derimot, viser økt nivå av plasma kortisol og GH ved økt daglengde (McCormick, 2013; McCormick mfl., 2007).

Utviklingsforskjell i henhold til kapasiteten til å svare på fotoperiode er således en nøkkelkomponent for smoltifisering hos atlantisk laks (McCormick, 2013).

### **1.8.2 Temperatur**

I likhet med fotoperiode, er også temperatur vist å være en svært viktig miljøfaktor vedrørende smoltifisering. Temperatur anses ikke primært å drive smoltifiseringen, men opererer som en hastighetsregulator for lysperiodedrevne endringshastigheter. Ved høye temperaturer oppstår responsen på endring i fotoperiode raskere, hvilket ikke er tilfelle ved lave temperaturer hvor utviklingen forsinkes og i ekstreme tilfeller kan hemme smoltifiseringen (Stefansson mfl., 2005). I naturen definerer den årlige temperatursyklusen fiskens vekstpotensial, og derigjennom tidspunktet hvor fisken når minimumsstørrelse for initiering av smoltifiseringsprosessen (Stefansson mfl., 2008).

### **1.9 Desmoltifisering**

En vellykket smolt overføres fra ferskvann til sjøvann når den hypoosmoregulierende kapasiteten er tilstrekkelig høy (Lundqvist & Eriksson, 1985). Dersom smolt forhindres i å nå sjøvann, vil mekanismer som tillater overlevelse i det marine miljø gå tapt, og en delvis omstilling tilbake til ferskvann vil oppstå, også kjent som desmoltifisering (Stefansson mfl., 1998). Begrepet bør brukes med omhu da det innebærer at samtlige aspekter ved smoltifisering reverseres, noe som ikke er tilfellet. Hvorom allting er, forblir mange av de reversible aspektene ved smoltifisering avgjørende for marin overlevelse, og indikerer en kritisk samt begrenset periode der fisken er i full beredskap for overgangen til marint miljø, også kjent som det fysiologiske smoltvinduet. Grensene for det fysiologiske smoltvinduet bestemmes av miljøfaktorer som styrer stimulering og tap av smoltkarakter. Som nevnt ovenfor, er fotoperiode og temperatur de viktigste drivmekanismene for smoltutvikling hos atlantisk laks (McCormick, 2013).

### **1.10 Kommersiell smoltproduksjon**

Overgangen fra ferskvann til sjøvann er et kritisk stadium i atlantisk lakseproduksjon. En smolt av dårlig kvalitet øker risikoen for mangelfull utvikling, helse og vekst hos en sjøvannsoverført smolt. Osmoregulatoriske problemer tilknyttet dårlig smoltifisering medfører økt stress og etterlater økt risiko for dødelighet den første tiden etter utsett. God kontroll på smoltifisering er av avgjørende betydning for å sikre god smoltkvalitet (Gu & Grønbech, 2019).

### 1.10.1 Bruk av lysstyring i kommersiell smoltproduksjon

Manipulering av fotoperiode har de senere årene gitt oppdrettsnæringen muligheten til å påvirke smoltifiseringstidspunktet. I kommersiell smoltproduksjon oppnås smoltifisering ved etterligning av den naturlige fotoperioden, enten ved å utsette pre-smolt for en simulert, naturlig økning i fotoperiode eller ved eksponering for en «vår-vinter-vår»-fotoperiodesekvens, hvor varigheten av vinterfasen komprimeres (Duston & Saunders, 1990; Strand mfl., 2018; Thrush mfl., 1994). Fisk som utsettes for en «kunstig» vinter om sommeren, smoltifiserer om høsten og benevnes 0-åring. En «normal» smolt gjengis som 1-åring, og smoltifiserer om våren med økende daglengde samt økende temperatur etter gjennomgått en naturlig vinterperiode (Arnesen mfl., 2003; Stefansson mfl., 1998). Studier har vist at en minimumsperiode for eksponering for en kort vinterperiode på seks uker, etterfulgt av en påfølgende økning i fotoperioden er nødvendig for å stimulere smoltifisering hos atlantisk laks (Berge mfl., 1995; Ebbesson mfl., 2007; Handeland & Stefansson, 2001; Strand mfl., 2018). Pre-smolt utsatt for en kortere vinterperiode på to uker viste ingen økning i NKA-enzymaktivitet. Videre ble ikke observert noen økning i NKA-enzymaktivitet i tillegg til høy dødelighet i sjøvann hos juvenil laks utsatt for kontinuerlig lysregime, noe som tyder på at mangel på passende lysstyrt regime forhindrer en vellykket smoltifisering (Berge mfl., 1995; Duston & Saunders, 1995; Handeland & Stefansson, 2001; Lubin mfl., 1991).

### 1.12 Problemstilling

Hovedmålet med denne oppgaven er å studere hvordan lysmanipulering eller ikke påvirker smoltutviklingen hos domestisert atlantisk laks. Følgende hypoteser ønskes testet:

- **H<sub>0</sub>:** Det er ingen forskjell i utviklingen av smolt mellom lysmanipulert og ikke lysmanipulert fisk
- **H<sub>1</sub>:** Lysmanipulering påvirker ikke tidspunkt for desmoltifisering
- **H<sub>2</sub>:** Lysmanipulering påvirker ikke osmoregulatorisk kapasitet eller fiskevelferd

## 2.0 Metode

### 2.1 Godkjenning av bruk av dyr i forsøk

Forsøket ble gjennomført ved Nord universitets anlegg, Mørkvedbukta forskningsstasjon i Bodø, Nordland. Forsøket er en del av et større prosjekt, og ble godkjent av Mattilsynet av brev den 24.05.2019 (FOTS ID 19447).

### 2.2 Forsøksfisk

750 atlantisk lakseparr (*Salmo salar*) ble innhentet fra Cermaq Norway AS, avd. Hopen. Laksen var av stamme AquaGen QTL-Innova SHIELD, og ble klekket 08.12.18 ved Hopen Settefiskanlegg. Ved ankomst Mørkvedbukta forskningsstasjon 09.05.19 hadde fisken en gjennomsnittsvikt på 11,5 gram. Lakseparene ble plassert i ett kar à 2,5 m<sup>3</sup> med kontinuerlig lysstyring (24L:0M; L = lys og M = mørke) hvor den stod frem til 19.06.10. Derneft ble fisken splittet i to nye kar à 2,5 m<sup>3</sup> (akklimatiseringsfase) hvor den stod frem til forsøksstart 05.08.19. Ved forsøksstart hadde fisken en gjennomsnittsvikt på 37,43 ± 6,62 gram, og en gjennomsnittslengde på 14,9 ± 1,0 cm. Forsøket ble gjennomført i RAS-anlegget ved forskningsstasjonen, og gjennomsnittlig oksygenmetning var 98 ± 10,5% O<sub>2</sub> metning. Sjøvann til bruk i sjøvannstester under forsøket ble hentet fra 250 m dyp med en stabil salinitet 33,5‰. Temperaturen i både ferskvann og sjøvann var stabil på 13,5 ± 0,5 °C under hele forsøksperioden. Fisken ble gjennom hele forsøket fôret med kommersielt fôr til metning (Skretting AS).

### 2.3 Forsøksoppsett

#### 2.3.1 Fase 1 – vintersignal

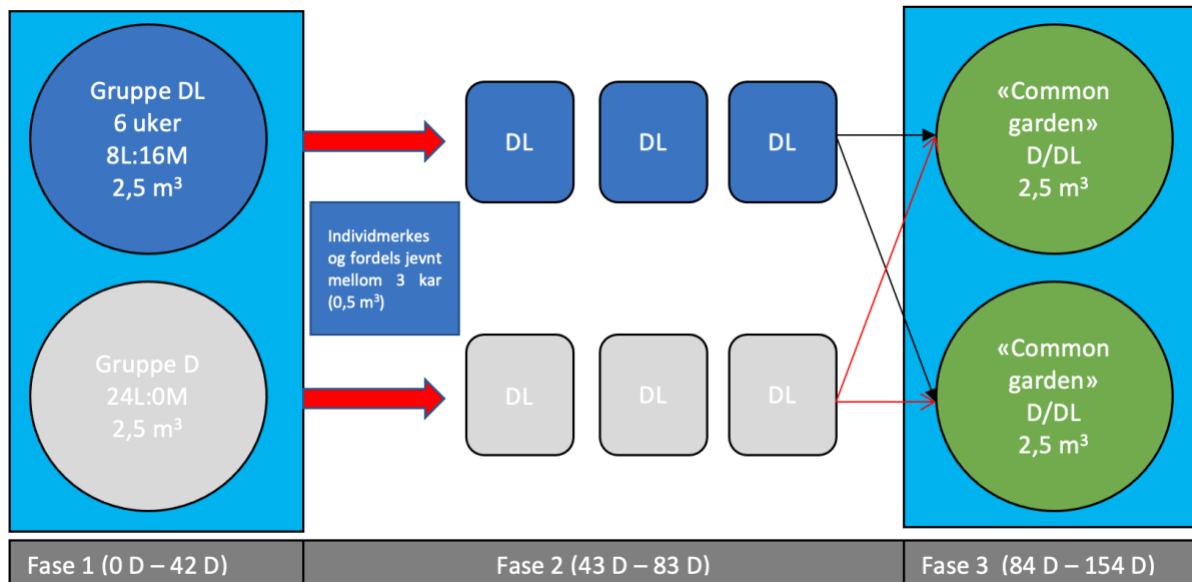
Ved forsøksstart var fisken fordelt i 2 kar à 2,5 m<sup>3</sup> (heretter referert til som kar D og DL) med lokk med innebygget lys. Kar D ble gitt kontinuerlig lysstyring (24L:0M), mens kar DL ble eksponert for en «vinterbelysning» (8L:16M) i 6 uker, frem til 16.09.19.

#### 2.3.2 Fase 2 – smoltifisering

Ved oppstart fase 2 16.09.19 ble kar D og DL fordelt i henholdsvis 3 kar à 500 liter hver (triplikat; 6 kar totalt) gitt kontinuerlig lysstyring (24L:0M) som ble gjeldene ut forsøket. I forbindelse med flyttingen, ble hver fisk individuelt tagget med FloyTag ([www.floytag.com](http://www.floytag.com)) i tillegg til registrering av vekt og lengde. Taggene hadde egen farge for hvert lysregime. I denne fasen måtte en gjennomføre to formalinbehandlinger i uke 42 (14.10.19 – 20.10.19) grunnet påvisning av Costia.

### 2.3.3. Fase 3 – utsett

Ved oppstart fase 3 (28.10.19) ble fisken fra D og DL flyttet tilbake, og jevnt fordelt i to kar på 2,5 m<sup>3</sup> («common garden» prinsipp) med resirkulert ferskvann av samme vannkvalitet som beskrevet i kapittel 2.2. Her ble fisken stående frem til forsøkets slutt.



**Figur 7:** Skisse av forsøket gjennomført på atlantisk laks i perioden 05.08 til 06.01.20. Gjennomsnittlig vanntemperatur i RAS-anlegget var 13,5 °C.

### 2.4 Prøveuttak

Det ble i forsøksperioden 05.08.19 – 06.01.20 utført 11 prøveuttak. 6 fisk fra hver gruppe ble tatt ut til prøvetaking og bedøvet i 10 L bølter med 5 mg L<sup>-1</sup> metomidat (Aquacalm, Syndel Inc., Canada). Konsentrasjonen av metomidat var tilstrekkelig for å indusere rask anestesi, og hindre en økning av plasmakortisol under prøveuttak (Olsen mfl., 1995). Det ble utført vurdering av smoltindeks samt velferdsscoreing, i tillegg til registrering av vekt (gram) og lengde (gaffellengde, centimeter). Det ble deretter tatt blodprøver fra caudalvenen ved bruk av en heparinisert sprøyte. Blodet ble sentrifugert i 5 minutter på 5000 o/min (3260 x g; VWR MiniStar Silverline Centrifuge) før plasma ble pipettert over i 1,5 ml eppendorfrør og lagret ved -30 °C til senere analyser.

Videre ble det tatt gjelleprøver, hvor to mindre seksjoner av andre gjellebue ble lagret i 2 ml kryorør tilsatt SEI-buffer og fryst i flytende nitrogen for rask innfrysning til senere analyse. Det ble også gjennomført en utvidet 48 timer sjøvannstest (Blackburn & Clarke, 1987) hvor 12 fisk fra hvert kar ble håvet over i egne sjøvannskar. Eventuelle svimere og dødfisk ble plukket ut ved tilsyn etter 24 timer. Ved avsluttet sjøvannstest etter 48 timer, ble fiskene håvet ut i bølter

med bedøvelse, etterfulgt av uttak av blod som beskrevet over, samt registrering av vekt og lengde.

## 2.5 Beregning av spesifikk vekstrate og kondisjonsfaktor

### 2.5.1 Spesifikk vekstrate (SGR)

Den prosentvise daglige tilveksten ble beregnet etter formelen;

$$SGR(\%) = \frac{\ln(\text{sluttvekt}) - \ln(\text{startvekt})}{(t_2 - t_1)}$$

hvor sluttvekt og startvekt er oppgitt i gram, og  $t_2 - t_1$  er antall dager mellom de aktuelle veiingene (Brett, 1979).

### 2.5.2 Kondisjonsfaktor

Kondisjonsfaktor ble beregnet etter Fulton's formel;

$$KF = \frac{\text{Vekt} * 100}{\text{Lengde}^3}$$

hvor vekt og lengde er oppgitt i henholdsvis gram og centimeter (Weatherley & Gill, 1987).

## 2.6 Analyser

### 2.6.1 Vurdering av smoltindeks

Det ble innledningsvis gjennomført visuell vurdering av smoltindeks umiddelbart etter anestesi. Hver fisk ble morfologisk vurdert for sølvfarge, parrmerker og mørke finnekantene på en skala fra 1 – 4 etter kommersielle standarder, hvor 4 er en morfologisk fullt utviklet smolt (Jensen mfl., 2019). Kriteriene for vurdering av smoltindeks er vist i tabell 1.










*Tabell 1: Smoltindeks, kriterier for bedømming av ulike faktorer i smoltindeks (Noble mfl., 2018).*

SØLVFARGE				
Indeks	Ingen	Svak	Synlig	Sølvfarget
Score	1	2	3	4
PARRMERKER				
Indeks	Sterk	Synlig	Svake	Ingen
Score	1	2	3	4
FINNEKANTER				
Indeks	Ingen	Svake	Synlig	Sorte kanter
Score	1	2	3	4



### 2.6.2 Vurdering av velferdsskår

I tillegg til smoltindeks, ble det også gjennomført en visuell vurdering av velferdsskår. Hver fisk ble vurdert for skjelltap, hudblødninger og aktiv finneskade på en skala fra 0 – 3 (Noble mfl., 2018).

	1	2	3
Hudblødninger	 <p>Mindre blødninger, «rødming» i bukområdet</p>	 <p>Større områder med blødninger, ofte også skjelltap</p>	 <p>Ferske blødninger, ofte med betydelig skjelltap, sår og ødemer i hud</p>
Skjelltap	 <p>Tap av enkelte skjell</p>	 <p>Små områder med skjelltap</p>	 <p>Store områder med skjelltap</p>
Aktiv finneskade*	 <p>Lett splitting og/eller blødende sår, splittingen er bare ytre deler av finnelengden</p>	 <p>Tydelig splitting og/eller blødende sår, splittingen er halvdelen av finnelengden</p>	 <p>Ekstrem splitting og/eller blødende sår, splittingen går ned til finnebasis. Deler kan være borte.</p>

\*Splitting og/ eller blødende sår

Figur 8: Oversikt over skårings skjema for hudblødninger, skjelltap og aktiv finneskade. Figur hentet fra Noble mfl. (2018).

### 2.6.3 Osmolalitet

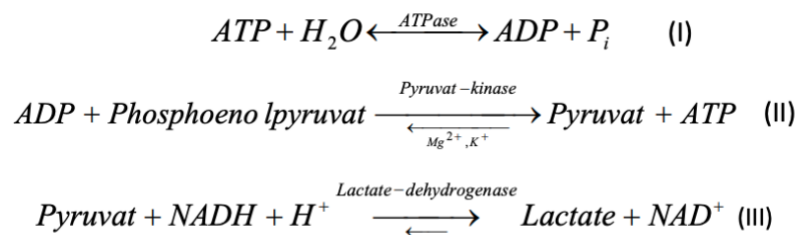
Osmolalitet ble målt ved bruk av OsmoPRO® Multi-Sample Micro-Osmometer (Advanced Instruments, United States). Blodplasma fra hvert individ ble tint og blandet ved hjelp av en vortexer i omtrent 3 sekunder før analysering. Instrumentets måleprinsipp baseres på frysepunktsdepresjon i en væske, hvor absolutt temperatur ved frysepunkt og smeltepunkt direkte samsvarer til konsentrasjonen (mOsm/kg H<sub>2</sub>O) av løste stoffer i væsken. I forkant av hver forsøksrunde, ble instrumentet kontrollert opp mot en standardvæske (Clinitrol™ 290 Reference Solution) som attesterte en standardverdi på  $290 \pm 2$  mOsm kg<sup>-1</sup>.

#### 2.6.4 Plasmaioner

Plasmaioner ble analysert ved hjelp av det analytiske instrumentet Respons 910 (DiaSys, Holzheim, Tyskland), og produsentens instruksjoner ble fulgt. Følgende ioner ble analysert; natrium ( $\text{Na}^+$ , Sodium FS), klor ( $\text{Cl}^-$ , Chloride 21 FS), magnesium ( $\text{Mg}^{2+}$ , Magnesium XL FS) og kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ , Calcium P FS). Natrium, klor, magnesium og kalsium hadde henholdsvis følgende måleintensitet; 100-180 mM, 40-170 mM, 0,08-3,00 mM og 0,22-4,00 mM. Alle prøver ble fortynnet 1:2 med ionefritt destillert vann for å oppnå optimal sensitivitet. Respons 910 ble validert for fisk ved å parallellteste 20 prøver av fiskeplasma oppimot tidligere metoder beskrevet for fisk for henholdsvis klor og magnesium (Iversen & Eliassen, 2014).

#### 2.6.5 NKA-enzymaktivitet i gjeller

Den totale NKA-enzymaktivitet i gjellene ble målt ved bruk av en standardisert mikroanalyseprosedyre beskrevet av McCormick (1993). Denne prosedyren synliggjør hvor raskt en bestemt mengde enzym hydrolyserer adenosin-5'-trifosfat (ATP) til adenosin-5'-difosfat (ADP) + uorganisk fosfat ( $\text{P}_i$ ). Hydrolysen av ATP er enzymatisk koblet til oksidasjon av nikotinamid adenin dinukleotid ( $\text{NAD}^+$ ) (reduert fra NADH), og leses direkte av på en temperaturjustert plateleser (Tecan Sunrise Remote, Berman diagnostika, Østerrike) som endring i ekstinksjon ved en bølgelengde på 340 nm i 10 minutter. NKA-enzymaktiviteten beregnes ut ifra standardkurven av ADP samt hver prøves proteininnhold uttrykt som  $\mu\text{mol ADP/mg protein/time}$  (McCormick, 1993).



Figur 9: Forenklet oversikt over analyse av  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase i gjeller. Figur hentet fra Jakobsen (2013).

Reagenser og løsninger tiltrengt måling av enzymaktiviteten ble laget på forhånd av prøvebehandlingen. SEI buffer, 0,5% SEID buffer, imidazole buffer (IB), saltløsning og  $\text{Na}^+$ -Acetate buffer ble oppbevart i kjøleskap ved 4 °C. Phosphoenolpyruvat (PEP) samt ADP standard ble oppbevart i fryser ved -35 °C, og oubain ble lagret i romtemperatur i en lystett flaske. Et AM-medium (Assay Mixture) ble laget på ny for hver forsøksrunde bestående av IB, pyruvat kinase (PK), lactic dehydrogenase (LHD), NADH, ATP og PEP. AM-mediumet ble så brukt til å lage bruksløsningene AM og AM-O, hvor AM-O ble tilsatt enzymhemmeren oubain.

Det ble i tillegg laget ny ADP-standardkurve for hver forsøksrunde, bestående av ulike konsentrasjoner av ADP standard og IB.

Hver enkelt gjelleprøve ble tint på is, hvor 2 x 2 millimeter gjellefilament ble snittet ut og tilsatt 25 µl SEID samt 100 µl SEI. Deretter ble prøvene homogenisert i 10 sekunder ved bruk av en motorisert homogenisator (Argos Technologies Battery Operated Pestle Motor Mixer). Prøvene ble så sentrifugert i en kjølesentrifuge i 30 sekunder på 5000 o/min (4332 x g; Heraeus Sepatech Omnifuge 2 ORS radius 154 mm, rotor 3360) ved 1 °C for å fjerne uoppløselig materiale. 3 x 10 µl per ADP-standard ble pipetert over til en 96-well mikroplate, i tillegg til 12 x 10 µl prøvemateriale. Triplikater med 200 µl AM og 200 µl AM-O ble tilsatt parallelt i hver brønn. Bruksløsningene ble på forhånd satt i en varmeblokk for å oppnå ønsket temperatur på 25 °C. Platen ble lest på 340 nanometer i 10 minutter ved 25 °C. Resten av prøvematerialet ble fryst ned til senere proteinanalyser.

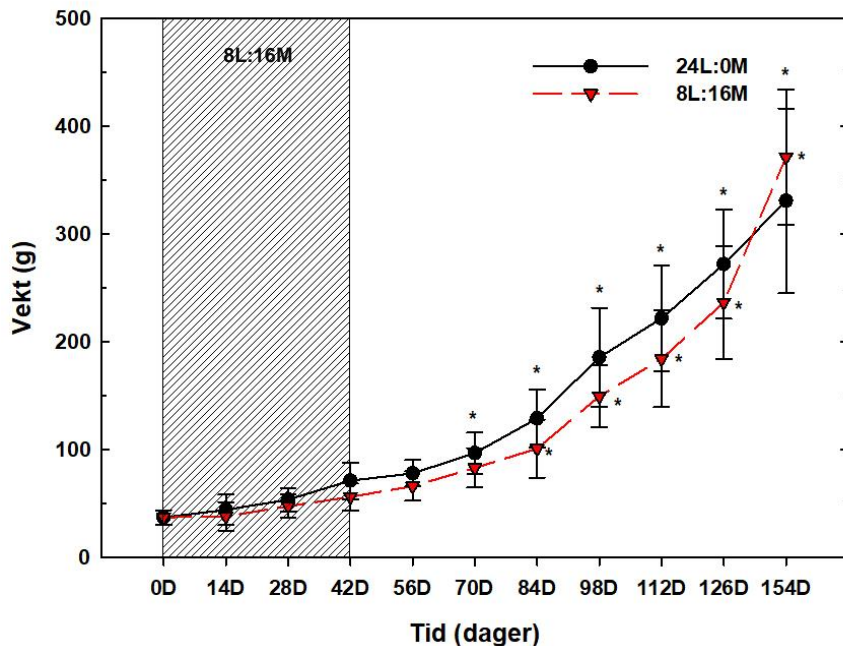
Til proteinanalysene ble det laget Working Reagent (WR) og fire forskjellige standarder ved bruk av BCA Protein Assay Reagent Kit. Resterende prøvemateriale ble tint på is, dernest vortexet og sentrifugert på 5000 o/min (3260 x g; VWR MiniStar Silverline Centrifuge) i 30 sekunder. 3 x 10 µl standard og 12 x 10 µl prøvemateriale ble pipetert over på mikroplaten. 200 µl WR ble så tilsatt hver brønn, deretter ble platen ristet forsiktig i 30 sekunder. Mikroplaten ble inkubert ved 37 °C i 60 minutter før den ble avkjølt ved romtemperatur. Platen ble lest på 540 nanometer.

## **2.7 Statistisk analyse**

Statistisk analyse ble gjort ved hjelp av statistikkprogrammet GraphPad Prism (ver 9,00) for Windows. Alle data ble testet for normalitet og homogenitet ved hjelp av henholdsvis Komogorov-Smirnov test og Levene's test. Dersom nødvendig ble data logtransformert for å møte disse antagelsene. For å måle endringene i de ulike fysiologiske og morfologiske parameterne fra start av forsøket (dag 0) til et annet tidspunkt innen en forsøksgruppe, og fra forskjellen i disse parameterne i de ulike forsøksgruppene og saliniteter ved samme tidspunkt, ble det benyttet en enveis variansanalyse (oneway-ANOVA) (Sokal & Rohlf, 1987). Hvis F-verdiene var signifikante, ble Bonferroni post hoc test kjørt for å bestemme på 0,05 nivå. Alle resultater er uttrykt i gjennomsnitt med standardavvik ( $\bar{n} \pm SD$ ). Signifikante forskjeller i figurene innen en gruppe ved ulike prøvetakingstidspunkt sammenliknet med dag 0 ble indikert med \*, og forskjeller mellom forsøksgruppene og saliniteter ved samme prøvetakingstidspunkt ble indikert med #.

## 3.0 Resultat

### 3.1 Vekst



**Figur 10:** Gjennomsnittsvekt (gram) hos atlantisk laksesmolt gjennom forsøksperioden (0 D til 154 D) for henholdsvis gruppene DL (8L:16M) og D (24L:0M) \* indikerer signifikant forskjell fra forsøksstart (0 D). Skravert område indikerer tidspunkt for «vinterperioden» (8L:16M).

Figur 10 viser gjennomsnittlige verdier av vekt (gram) i forsøksperioden. Den gjennomsnittlige vekten ved forsøksstart var  $37,43 \pm 6,62$  gram. Den høyeste gjennomsnittlige vekten i gruppe DL (8L:16M) og D (24L:0M) ble målt dag 154, og var henholdsvis  $371,65 \pm 62,82$  gram og  $331,03 \pm 85,77$  gram. En signifikant høyere vekt sammenlignet med forsøksstart (0 D) ble observert for begge gruppene ved dag 84, 98, 112, 126 og 154. I tillegg hadde fisk eksponert for kontinuerlig lysstyring en signifikant høyere vekt ved 70 D sammenlignet med forsøksstart.

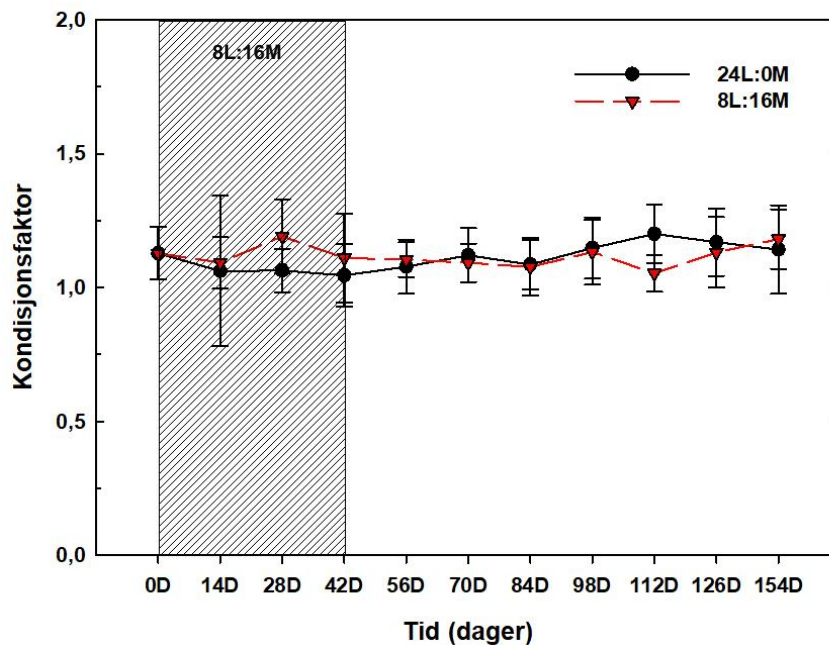
#### 3.1.1 Spesifikk vekstrate (SGR)

Spesifikk vekstrate (SGR) for begge gruppene er presentert i tabell 2. Fisk eksponert for lysmanipulering (8L:16M) hadde en økning i SGR i perioden 84 D – 154 D, sammenlignet med 0 D – 84 D. Dette var ikke tilfelle for fisk eksponert for kontinuerlig lysstyring (24L:0M) gjennom hele forsøket, hvor det i perioden 84 D – 154 D var en reduksjon i SGR sammenlignet med 0 D – 84 D.

Tabell 2: Gjennomsnittlig spesifikk vekstrate (SGR) i prosent i perioden 0 D – 84 D og 84 D – 154 D..

8L:16M	
Tidspunkt	Spesifikk vekstrate, SGR (%)
0 D – 84 D	1,18%
84 D – 154 D	1,80%
24L:0M	
0 D – 84 D	1,47%
84 D – 154 D	1,30%

### 3.1.2 Kondisjonsfaktor



Figur 11: Gjennomsnittlig kondisjonsfaktor hos atlantisk laksesmolt gjennom forsøksperioden, (0 D – 154 D) for henholdsvis gruppene DL (8L:16M) og D (24L:0M). Skravert område indikerer tidspunkt for «vinterperioden» (8L:16M).

Figur 11 viser gjennomsnittlige verdier av kondisjonsfaktor i forsøksperioden. Gjennomsnittlig kondisjonsfaktor (K-faktor) ved forsøksstart var  $1,13 \pm 0,10$ . Den høyeste gjennomsnittlige K-faktor i gruppe DL (8L:16M) og D (24L:0M) ble målt dag 154 og 112, og var henholdsvis  $1,18 \pm 0,11$  og  $1,20 \pm 0,11$ . Tilsvarende ble laveste gjennomsnittlige K-faktor målt i gruppe DL (8L:16M) og D (24L:0M) dag 84 og 42, og var henholdsvis  $1,08 \pm 0,11$  og  $1,05 \pm 0,12$ . Det var ingen signifikante forskjeller fra forsøksstart eller ved et gitt prøvetidspunkt mellom gruppene.

### 3.2 Smoltindeks

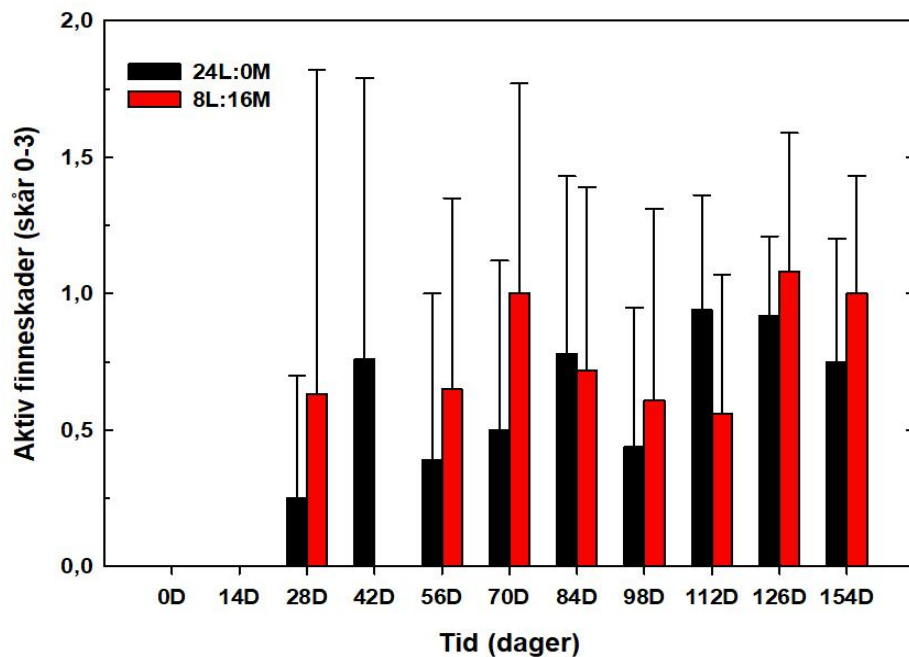
Tabell 3 viser gjennomsnittlig smoltindeks i forsøksperioden. Det ble ikke registrert noen signifikante forskjeller mellom gruppene eller fra forsøksstart (0 D).

Tabell 3: Gjennomsnittlig smoltindeks hos atlantisk laksesmolt gjennom forsøksperioden (0 D – 154 D).

Domestisert lys (8L:16M)						
Tidspunkt	Sølvfarge	SD	Parr-merker	SD	Sorte finne-kanter	SD
0 D	3,81	± 0,75	3,81	± 0,75	3,56	± 1,03
14 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
28 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
42 D	3,86	± 0,36	4,00	± 0,00	3,93	± 0,27
56 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
70 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
84 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
98 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
112 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
126 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
154 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
Domestisert (24L:0M)						
0 D	3,81	± 0,75	3,81	± 0,75	3,56	± 1,03
14 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	3,50	± 0,73
28 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
42 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
56 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
70 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
84 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
98 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
112 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
126 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00
154 D	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00	4,00	± 0,00

### 3.3 Velferdsskåring

#### 3.3.1 Aktive finneskader

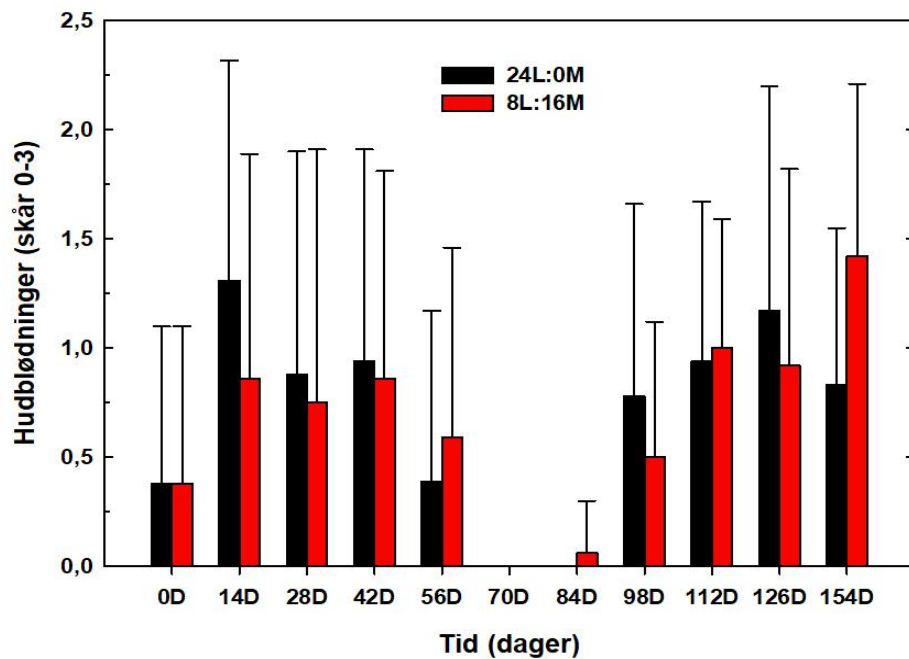


*Figur 12: Gjennomsnittlig skåring av aktive finneskade hos atlantisk laksesmolt gjennom forsøksperioden (0 D – 154 D) for henholdsvis gruppene DL (8L:16M) og D (24L:0M).*

Figur 12 viser gjennomsnittlig skåring av aktive finneskader gjennom forsøksperioden. Gjennomsnittlig skåring av aktive finneskader ved forsøksstart var  $0 \pm 0$ . Den høyeste gjennomsnittlige skåringen av aktive finneskader i gruppe DL (8L:16M) og D (24L:0M) ble målt dag 126 og 112, og var henholdsvis  $1,08 \pm 0,51$  og  $0,94 \pm 0,42$ . Tilsvarende ble laveste gjennomsnittlig skåring av aktive finneskader målt i gruppe DL (8L:16M) og D (24L:0M) dag 0 og 14 for begge gruppene, og var henholdsvis  $0 \pm 0$ . Det var ingen signifikante forskjeller fra forsøksstart eller ved et gitt prøvetidspunkt mellom gruppene.



### 3.3.2 Hudblødninger

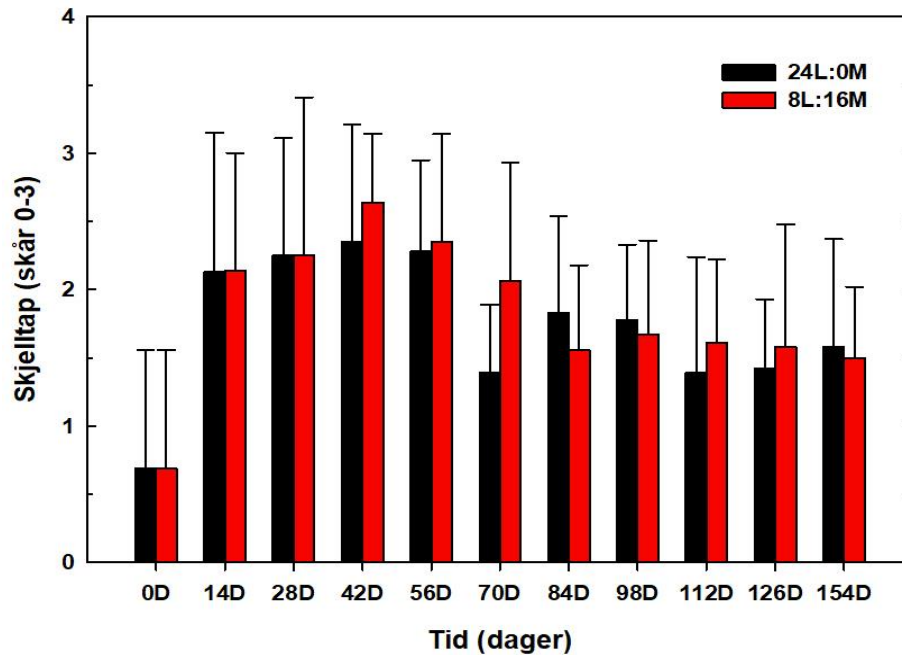


**Figur 13:** Gjennomsnittlig skåring av hudblødninger hos atlantisk laksesmolt gjennom forsøksperioden (0 D – 154 D) for henholdsvis gruppene DL (8L:16M) og D (24L:0M).

Figur 13 viser gjennomsnittlig skåring av hudblødninger gjennom forsøksperioden. Gjennomsnittlig skåring av hudblødninger ved forsøksstart var  $0,38 \pm 0,72$ . Den høyeste gjennomsnittlige skåringen av hudblødninger i gruppe DL (8L:16M) og D (24L:0M) ble målt dag 154 og 14, og var henholdsvis  $1,42 \pm 0,79$  og  $1,31 \pm 1,01$ . Tilsvarende ble laveste gjennomsnittlig skåring av hudblødninger målt i gruppe DL (8L:16M) og D (24L:0M) dag 70 for begge gruppene, og var henholdsvis  $0 \pm 0$ . Det var ingen signifikante forskjeller fra forsøksstart eller ved et gitt prøvetidspunkt mellom gruppene.



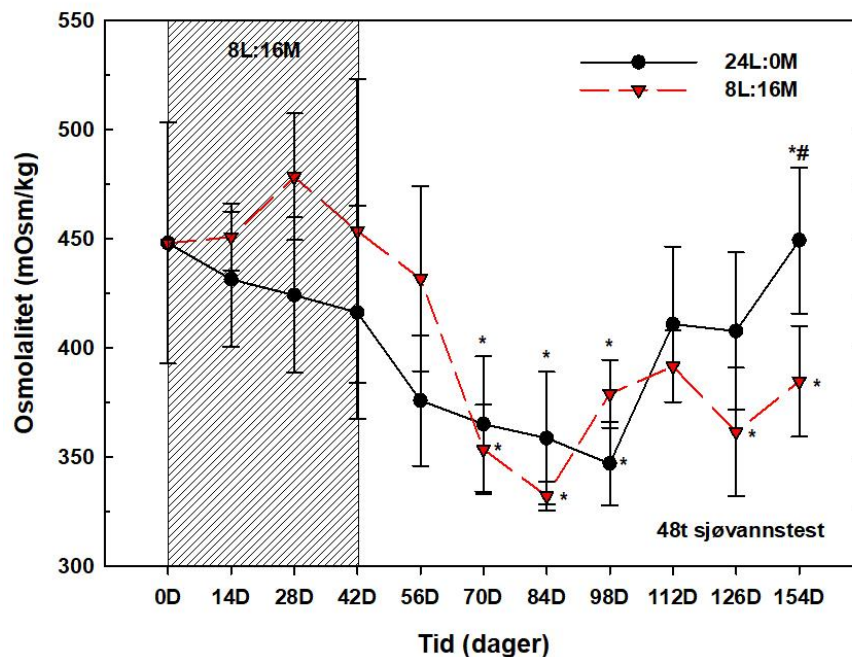
### 3.3.3 Skjelltap



**Figur 14:** Gjennomsnittlig skåring av skjelltap hos atlantisk laksesmolt gjennom forsøksperioden (0 D – 154 D) for henholdsvis gruppene DL (8L:16M) og D (24L:0M).

Figur 14 viser gjennomsnittlig skåring av skjelltap gjennom forsøksperioden. Gjennomsnittlig skåring av skjelltap ved forsøksstart var  $0,69 \pm 0,87$ . Den høyeste gjennomsnittlige skåringen av skjelltap i gruppe DL (8L:16M) og D (24L:0M) ble målt dag 42 for begge gruppene, og var henholdsvis  $2,64 \pm 0,50$  og  $2,35 \pm 0,86$ . Tilsvarende ble laveste gjennomsnittlig skåring av skjelltap målt i gruppe DL (8L:16M) og D (24L:0M) dag 0 for begge gruppene, og var henholdsvis  $0,69 \pm 0,87$ . Det var ingen signifikante forskjeller fra forsøksstart eller ved et gitt prøvetidspunkt mellom gruppene.

### 3.3 Osmolalitet

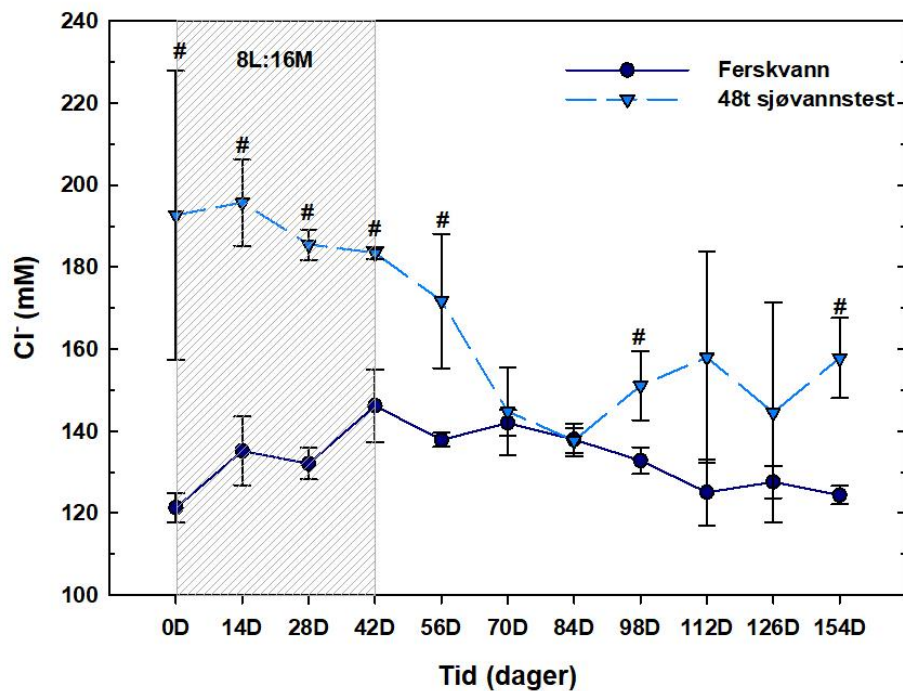


**Figur 15:** Gjennomsnittlige verdier av osmolalitet (mOsm/kg) hos atlantisk laksesmolt ved 48 timer sjøvannstest gjennom forsøksperioden (0 D – 154 D) for henholdsvis gruppene DL (8L:16M) og D (24L:0M). \* indikerer signifikant forskjell fra forsøksstart (0D), og # indikerer signifikant forskjell mellom gruppene ved et gitt prøvetidspunkt. Skravert område indikerer tidspunkt for «vinterperioden» (8L:16M).

Figur 15 viser gjennomsnittlige verdier av osmolalitet (mOsm/kg) etter 48 timer sjøvannstest i forsøksperioden. De gjennomsnittlige verdiene for osmolalitet ved forsøksstart var  $448,13 \pm 55,25$  mOsm/kg. Den høyeste gjennomsnittlige verdien av osmolalitet i gruppe DL (8L:16M) og D (24L:0M) ble målt dag 28 og 154, og var henholdsvis  $478,50 \pm 28,99$  og  $449,40 \pm 33,43$  mOsm/kg. Tilsvarende ble laveste gjennomsnittsverdi av osmolalitet målt i gruppe DL (8L:16M) og D (24L:0M) dag 84 og 98, og var henholdsvis  $332,33 \pm 6,62$  og  $347,17 \pm 19,17$ . Signifikante lavere verdier av plasmaosmolalitet sammenlignet med forsøksstart ble observert hos begge gruppene ved 70 D, 84 D, 98 D og 154 D. Dette var også tilfellet for den lysmanipulerte gruppen ved 126 D. Ved 154 D var plasmaosmolalitet i tillegg signifikant høyere hos fisk eksponert for kontinuerlig lysstyring sammenlignet med den lysmanipulerte gruppen ved samme prøvetidspunkt.

### 3.4 Plasmaioner

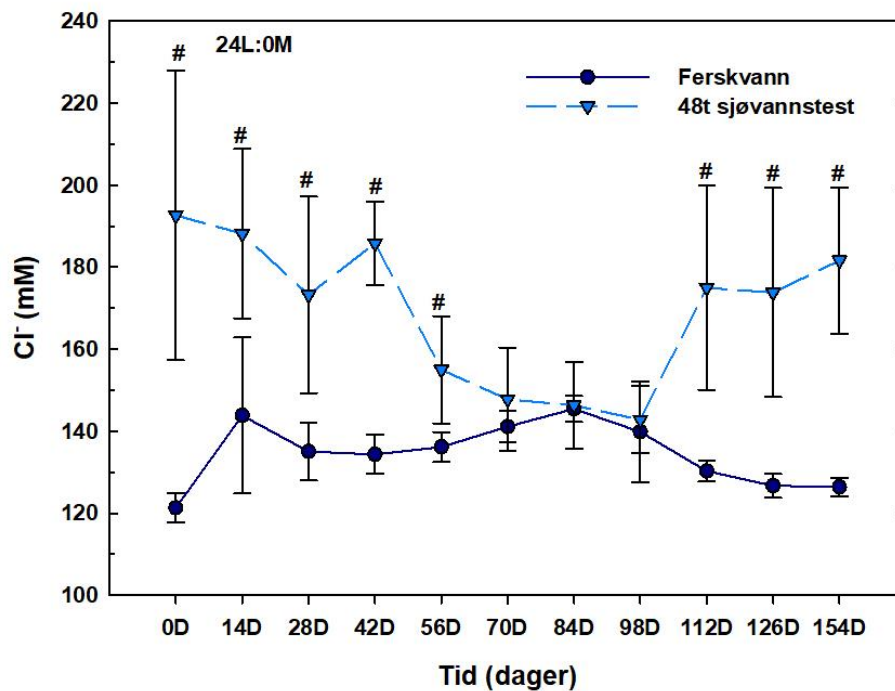
#### 3.4.1 Plasmaklorid 8L:16M



**Figur 16:** Gjennomsnittlige verdier av plasmaklorid (mM) gjennom forsøksperioden (0 D – 154 D) hos gruppe DL (8L:16M) i henholdsvis ferskvann og ved 48 timer sjøvannstest. # indikerer signifikant forskjell mellom ferskvann og sjøvannstest ved et gitt prøvetidspunkt. Skravert område indikerer tidspunkt for «vinterperioden» (8L:16M).

Figur 16 viser gjennomsnittlige verdier av plasmaklorid (mM) i forsøksperioden for fisk eksponert for en vinterperiode (8L:16M) etterfulgt kontinuerlig lysstyring (24L:0M). De gjennomsnittlige verdiene for plasmaklorid ved forsøksstart var  $121,30 \pm 3,54$  og  $192,64 \pm 35,37$  mM for henholdsvis fisk i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest. Den høyeste målte gjennomsnittlige verdien av plasmaklorid i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest ble målt dag 42 og 14, og var henholdsvis  $146,17 \pm 8,91$  og  $195,73 \pm 10,54$  mM. Tilsvarende ble laveste gjennomsnittsverdi av plasmaklorid i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest målt dag 0 og 84, og var henholdsvis  $121,30 \pm 3,54$  og  $137,67 \pm 3,01$  mM. Plasmaklorid var signifikant høyere hos fisk eksponert for sjøvannstest ved dag 0 D, 14 D, 28 D, 42 D, 56 D, 98 D og 154 D sammenlignet med ferskvannsverdier ved samme prøvetidspunkt.

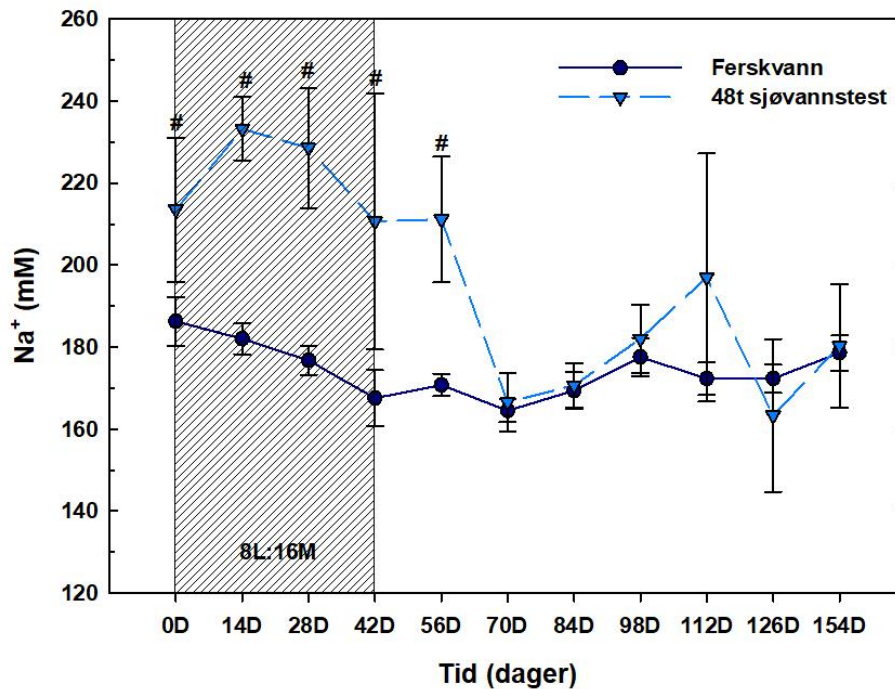
### 3.4.2 Plasmaklorid 24L:0M



**Figur 17:** Gjennomsnittlige verdier av plasmaklorid (mM) gjennom forsøksperioden (0 D – 154 D) hos gruppe D (24L:0M) i henholdsvis ferskvann og ved 48 timer sjøvannstest. # indikerer signifikant forskjell mellom ferskvann og sjøvannstest ved et gitt prøvetidspunkt.

Figur 17 viser gjennomsnittlige verdier av plasmaklorid (mM) i forsøksperioden for fisk eksponert for kontinuerlig lysstyring (24L:0M). De gjennomsnittlige verdiene for plasmaklorid ved forsøksstart var  $121,30 \pm 3,54$  og  $192,64 \pm 35,37$  mM for henholdsvis fisk i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest. Den høyeste målte gjennomsnittlige verdien av plasmaklorid i ferskvann og 48 timer sjøvannstest ble målt dag 84 og 0, og var henholdsvis  $145,46 \pm 3,15$  og  $192,64 \pm 35,37$  mM. Tilsvarende ble laveste gjennomsnittsverdi av plasmaklorid i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest målt dag 0 og 98, og var henholdsvis  $121,30 \pm 3,54$  og  $142,83 \pm 8,23$  mM. Plasmaklorid var signifikant høyere hos fisk eksponert for sjøvannstest ved 0 D, 14 D, 28 D, 42 D, 56 D, 112 D, 126 D og 154 D sammenlignet med ferskvannsverdier ved samme prøvetidspunkt.

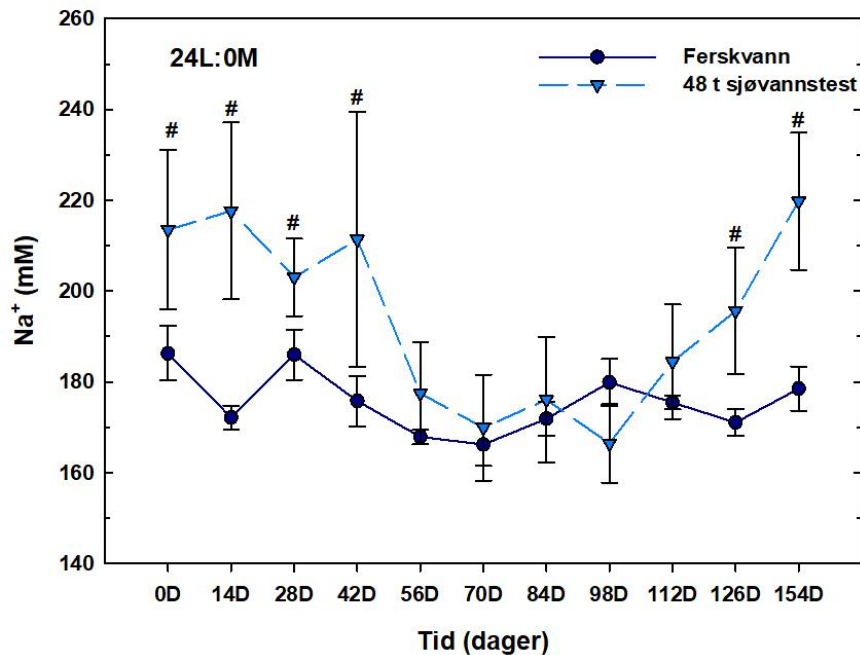
### 3.4.3 Plasmanatrium 8L:16M



**Figur 18:** Gjennomsnittlige verdier av plasmanatrium (mM) gjennom forsøksperioden (0 D – 154 D) hos gruppe DL (8L:16M) i henholdsvis ferskvann og ved 48 timer sjøvannstest. # indikerer signifikant forskjell mellom ferskvann og sjøvannstest ved et gitt prøvetidspunkt. Skravert område indikerer tidspunkt for «vinterperioden» (8L:16M).

Figur 18 viser gjennomsnittlige verdier av plasmanatrium (mM) i forsøksperioden for fisk eksponert for en vinterperiode (8L:16M) etterfulgt kontinuerlig lysstyring (24L:0M). De gjennomsnittlige verdiene for plasmanatrium ved forsøksstart var  $186,28 \pm 6,0$  og  $213,50 \pm 17,5$  mM for henholdsvis fisk i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest. Den høyeste målte gjennomsnittlige verdien av plasmanatrium i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest ble målt dag 0 og 14, og var henholdsvis  $186,26 \pm 6,0$  og  $233,23 \pm 7,7$  mM. Tilsvarende ble laveste gjennomsnittsverdi av plasmanatrium i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest målt dag 70, og var henholdsvis  $164,52 \pm 2,8$  og  $166,58 \pm 7,2$  mM. Plasmanatrium var signifikant høyere hos fisk eksponert for sjøvannstest ved 0 D, 14 D, 28 D, 42 D og 56 D sammenlignet med ferskvannsverdier ved samme prøvetidspunkt.

### 3.4.4 Plasmanatrium 24L:0M

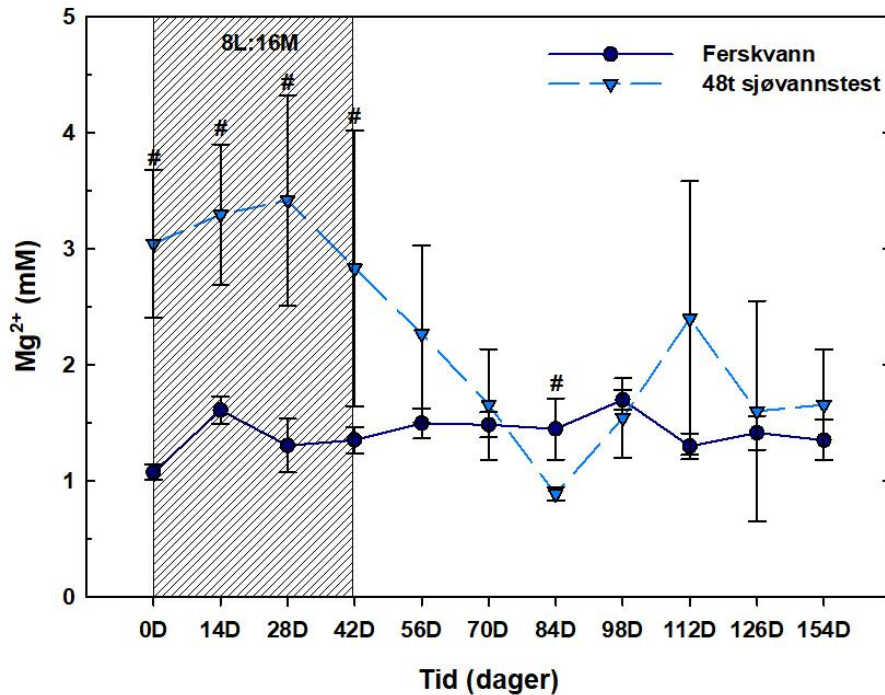


**Figur 19:** Gjennomsnittlige verdier av plasmanatrium (mM) gjennom forsøksperioden (0 D – 154 D) hos gruppe D (24L:0M) i henholdsvis ferskvann og ved 48 timer sjøvannstest. # indikerer signifikant forskjell mellom ferskvann og sjøvannstest ved et gitt prøvetidspunkt.

Figur 19 viser gjennomsnittlige verdier av plasmanatrium (mM) i forsøksperioden for fisk eksponert for kontinuerlig lysstyring (24L:0M). De gjennomsnittlige verdiene for plasmanatrium ved forsøksstart var  $186,28 \pm 6,0$  og  $213,50 \pm 17,5$  mM for henholdsvis fisk i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest. Den høyeste målte gjennomsnittlige verdien av plasmanatrium i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest ble målt dag 28 og 14, og var henholdsvis  $186,00 \pm 5,5$  og  $217,67 \pm 19,5$  mM. Tilsvarende ble laveste gjennomsnittsverdi av plasmanatrium i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest målt dag 70 og 98, og var henholdsvis  $166,22 \pm 4,7$  og  $166,50 \pm 8,7$  mM. Plasmanatrium var signifikant høyere hos fisk eksponert for sjøvannstest ved 0 D, 14 D, 28 D, 42 D, 126 D og 154 D sammenlignet med ferskvannsverdier ved samme prøvetidspunkt.



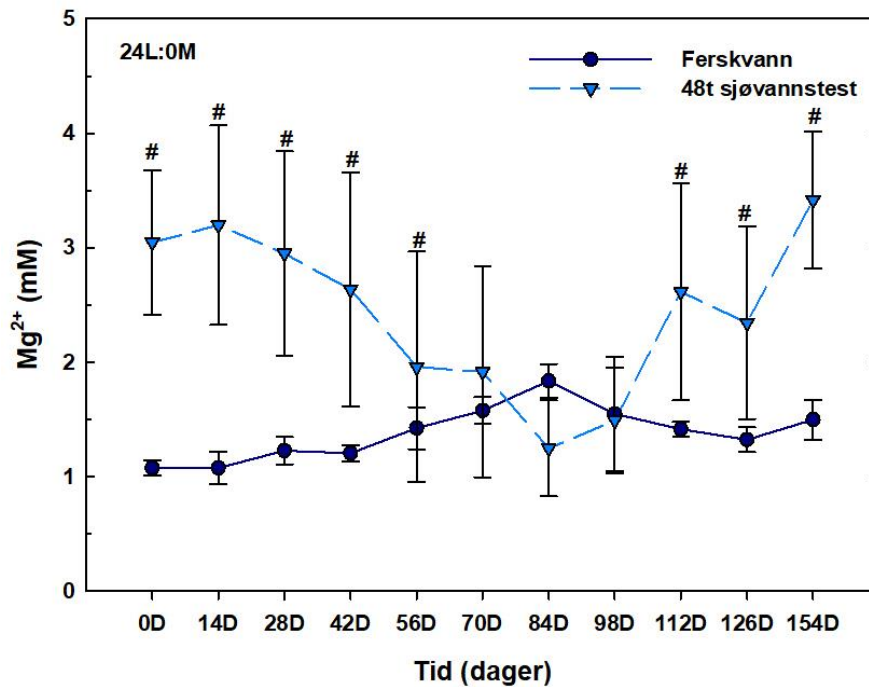
### 3.4.5 Plasmamagnesium 8L:16M



**Figur 20:** Gjennomsnittlige verdier av plasmamagnesium (mM) gjennom forsøksperioden (0 D – 154 D) hos gruppe DL (8L:16M) i henholdsvis ferskvann og ved 48 timer sjøvannstest. # indikerer signifikant forskjell mellom ferskvann og sjøvannstest ved et gitt prøvetidspunkt. Skravert område indikerer tidspunkt for «vinterperioden» (8L:16M).

Figur 20 viser gjennomsnittlige verdier av plasmamagnesium (mM) i forsøksperioden for fisk eksponert for en vinterperiode (8L:16M) etterfulgt kontinuerlig lysstyring (24L:0M). De gjennomsnittlige verdiene for plasmamagnesium ved forsøksstart var  $1,08 \pm 0,07$  og  $3,05 \pm 0,63$  mM for henholdsvis fisk i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest. Den høyeste målte gjennomsnittlige verdien av plasmamagnesium i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest ble målt dag 98 og 28, og var henholdsvis  $1,70 \pm 0,08$  og  $3,42 \pm 0,91$  mM. Tilsvarende ble laveste gjennomsnittsverdi av plasmamagnesium i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest målt dag 0 og 84, og var henholdsvis  $1,08 \pm 0,07$  og  $0,89 \pm 0,06$  mM. Plasmamagnesium var signifikant høyere hos fisk etter sjøvannstest ved 0 D, 14 D, 28 D og 42 D sammenlignet med ferskvannsverdier ved samme prøvetidspunkt. Ved 84 D var plasmamagnesium signifikant høyere i ferskvann sammenlignet med sjøvannstest.

### 3.4.6 Plasmamagnesium 24L:0M

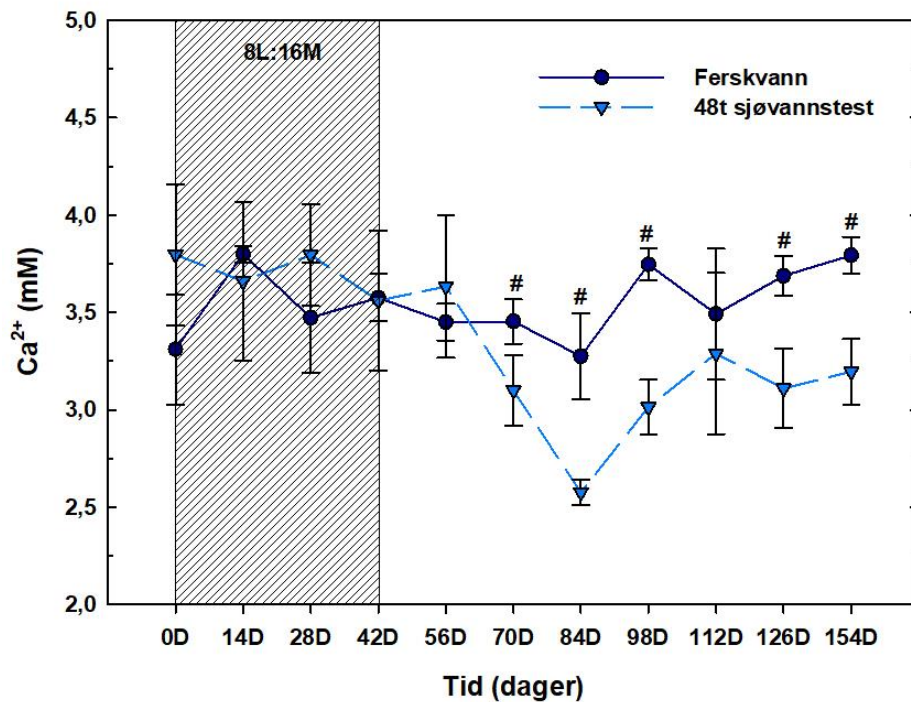


**Figur 21:** Gjennomsnittlige verdier av plasmamagnesium (mM) gjennom forsøksperioden (0 D – 154 D) hos gruppe D (24L:0M) i henholdsvis ferskvann og ved 48 timer sjøvannstest. # indikerer signifikant forskjell mellom ferskvann og sjøvannstest ved et gitt prøvetidspunkt.

Figur 21 viser gjennomsnittlige verdier av plasmamagnesium (mM) i forsøksperioden for fisk eksponert for kontinuerlig lysstyring (24L:0M). De gjennomsnittlige verdiene for plasmamagnesium ved forsøksstart var  $1,08 \pm 0,07$  og  $3,05 \pm 0,63$  mM for henholdsvis fisk i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest. Den høyeste målte gjennomsnittlige verdien av plasmamagnesium i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest ble målt dag 84 og 154, og var henholdsvis  $1,84 \pm 0,15$  og  $3,42 \pm 0,60$  mM. Tilsvarende ble laveste gjennomsnittsverdi av plasmamagnesium i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest målt dag 0 og 84, og var henholdsvis  $1,08 \pm 0,07$  og  $1,25 \pm 0,42$  mM. Plasmamagnesium var signifikant høyere hos fisk etter sjøvannstest ved 0 D, 14 D, 28 D, 42 D, 56 D, 112 D, 126 D og 154 D sammenlignet med ferskvannsverdier ved samme prøvetidspunkt.



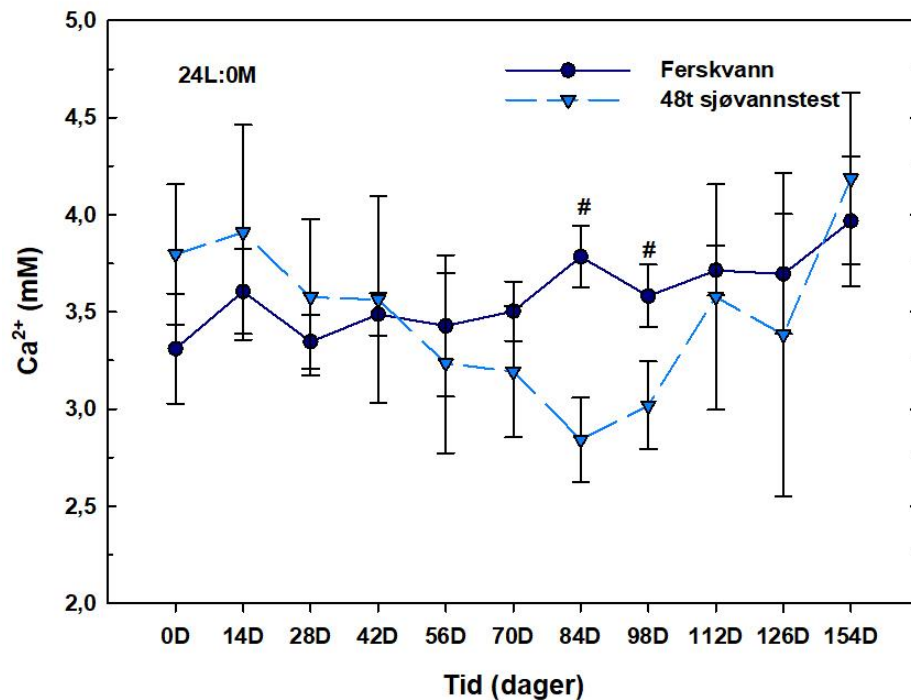
### 3.4.7 Plasmakalsium 8L:16M



**Figur 22:** Gjennomsnittlige verdier av plasmakalsium (mM) gjennom forsøksperioden (0 D – 154 D) hos gruppe DL (8L:16M) i henholdsvis ferskvann og ved 48 timer sjøvannstest. # indikerer signifikant forskjell mellom ferskvann og sjøvannstest ved et gitt prøvetidspunkt. Skravert område indikerer tidspunkt for «vinterperioden» (8L:16M).

Figur 22 viser gjennomsnittlige verdier av plasmakalsium (mM) i forsøksperioden for fisk eksponert for en vinterperiode (8L:16M) etterfulgt kontinuerlig lysstyring (24L:0M). De gjennomsnittlige verdiene for plasmakalsium ved forsøksstart var  $3,31 \pm 0,28$  og  $3,80 \pm 0,36$  mM for henholdsvis fisk i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest. Den høyeste målte gjennomsnittlige verdien av plasmakalsium i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest ble målt dag 98 og 0, og var henholdsvis  $3,75 \pm 0,08$  og  $3,80 \pm 0,36$  mM. Tilsvarende ble laveste gjennomsnittsverdi av plasmakalsium i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest målt dag 84, og var henholdsvis  $3,28 \pm 0,22$  og  $2,58 \pm 0,06$  mM. Plasmakalsium var signifikant høyere i ferskvann ved 70 D, 84 D, 98 D, 126 D og 154 D sammenlignet med sjøvannstestverdier ved samme prøvetidspunkt.

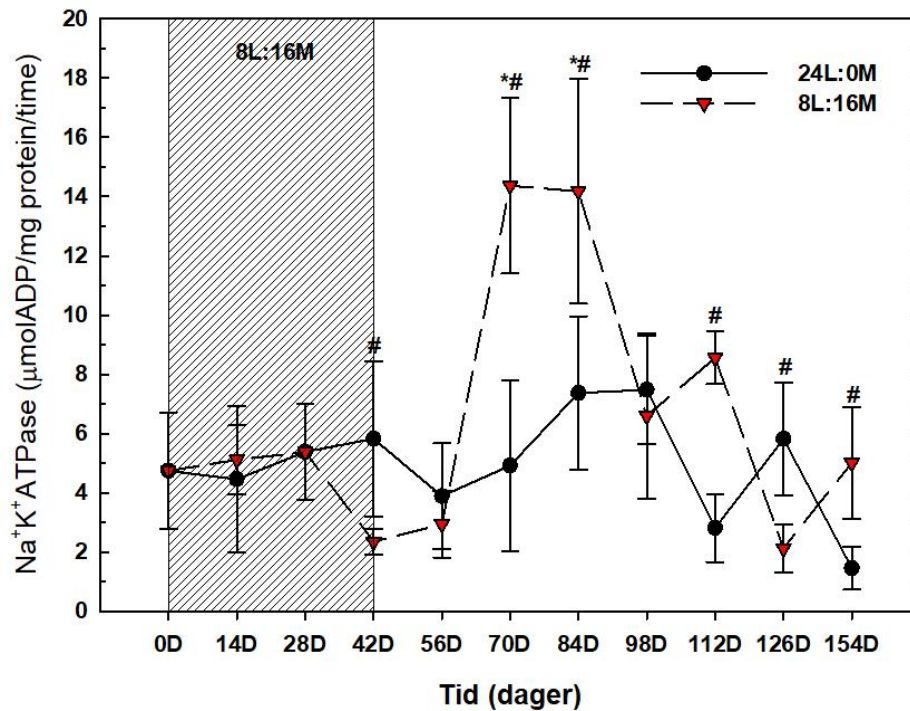
### 3.4.8 Plasmakalsium 24L:0M



**Figur 23:** Gjennomsnittlige verdier av plasmakalsium (mM) gjennom forsøksperioden (0 D – 154 D) hos gruppe D (24L:0M) i henholdsvis ferskvann og ved 48 timer sjøvannstest. # indikerer signifikant forskjell mellom sjøvannstest og ferskvann ved et gitt prøvetidspunkt.

Figur 23 viser gjennomsnittlige verdier av plasmakalsium (mM) i forsøksperioden for fisk eksponert for kontinuerlig lysstyring (24L:0M). De gjennomsnittlige verdiene for plasmakalsium ved forsøksstart var  $3,31 \pm 0,28$  og  $3,80 \pm 0,36$  mM for henholdsvis fisk i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest. Den høyeste målte gjennomsnittlige verdien av plasmakalsium i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest ble målt dag 154, og var henholdsvis  $3,97 \pm 0,33$  og  $4,19 \pm 0,44$  mM. Tilsvarende ble laveste gjennomsnittsverdi av plasmakalsium i ferskvann og etter 48 timer sjøvannstest målt dag 0 og 84, og var henholdsvis  $3,31 \pm 0,28$  og  $2,84 \pm 0,22$  mM. Plasmakalsium var signifikant høyere i ferskvann ved 84 D og 98 D sammenlignet med sjøvannstestverdier ved samme prøvetidspunkt.

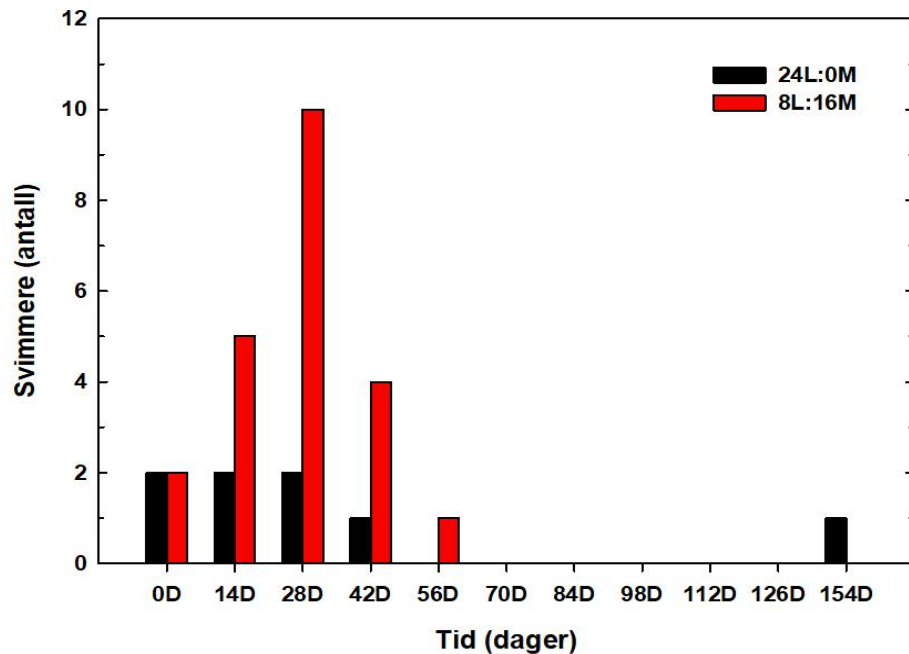
### 3.5 NKA-enzymaktivitet



**Figur 24:** Gjennomsnittlig NKA-enzymaktivitet ( $\mu\text{mol ADP/mg protein/time}$ ) gjennom forsøksperioden (0D-154D) hos atlantisk laksesmolt i ferskvann for henholdsvis gruppene DL (8L:16M) og D (24L:0M). \* indikerer signifikant forskjell fra forsøksstart, og # indikerer signifikant forskjell mellom gruppene ved et gitt prøvetidspunkt. Skravert område indikerer tidspunkt for «vinterperioden» (8L:16M).

Figur 24 viser gjennomsnittlige verdier av NKA-enzymaktivitet ( $\mu\text{mol ADP/mg protein/time}$ ) i ferskvann i forsøksperioden. De gjennomsnittlige verdiene av NKA ved forsøksstart var  $4,75 \pm 1,97 \mu\text{mol}$ . Den høyeste gjennomsnittlige verdien av NKA i gruppe DL (8L:16M) og D (24L:0M) ble målt dag 70 og 98, og var henholdsvis  $14,37 \pm 5,96$  og  $7,47 \pm 1,82 \mu\text{mol ADP/mg protein/time}$ . Tilsvarende ble laveste gjennomsnittsverdi av NKA målt i gruppe DL (8L:16M) og D (24L:0M) dag 42 og 154, og var henholdsvis  $2,35 \pm 0,44$  og  $1,45 \pm 0,72$ . I tillegg var NKA signifikant høyere for den lysmanipulerte gruppen sammenlignet med kontinuerlig lysstyrt gruppe ved 70 D, 84 D, 112 D og 154 D. Ved 42 D og 126 D var NKA signifikant høyere hos fisk eksponert for kontinuerlig lysstyring sammenlignet med den lysmanipulerte gruppen.

### 3.6 Svimmere etter sjøvannstest



*Figur 25: Antall svimmere av totalt 12 fisk per gruppe etter sjøvannstester gjennom forsøksperioden (0 D – 154 D) for henholdsvis gruppene D (8L:16M) og DL (24L:0M).*

Figur 25 viser antall svimmere registrert i forbindelse med sjøvannstest under forsøksperioden. Et noe høyere antall svimmere ble observert hos fisk eksponert for 8L:16M ved dag 14, 28 og 42 sammenlignet med fisk eksponert for 24L:0M. Ved dag 56 ble det registrert svimer hos den lysmanipulerte gruppen, mens det ved dag 154 ble registrert svimer hos gruppen eksponert for kontinuerlig lysstyring. Det ble ikke registrert svimmere ved 70 D, 84 D, 98 D, 112 D og 126 D.

## 4.0 Diskusjon

I den spede oppstart på 1970-tallet var oppdrettsnæringen å regne som en tilleggsnæring for kystbefolkningen (Statistisk sentralbyrå., 2017). I dag produserer Norge over halvparten av all atlantisk oppdrettslaks i verden (Norsk industri, u.å.), og smoltproduksjonen har økt kraftig med årene i tråd med en næring i stadig utvikling. I 2019 ble det produsert hele 372 millioner atlantisk laksesmolt her til lands, en økning på omtrent 64 millioner laksesmolt sammenlignet med 2014 (Fiskeridirektoratet., 2020). Til tross for en økende produksjon med et betydelig ressursbruk rettet mot bærekraft, er næringens samlede fiskedødelighet for høy (Brun, 2021). Med smoltkvalitet som den viktigste innsatsfaktoren, er det av avgjørende betydning å inneha god kontroll på smoltifiseringsprosessen. Utvikling av fundamentale fysiologiske, morfologiske samt atferdsmessige egenskaper er grunnleggende for forberedelsen til et liv i det marine miljø hos anadrom laksefisk (Hoar, 1988; van Rijn mfl., 2020), hvor eksponering for en økende fotoperiode antas å være den mest avgjørende miljøfaktoren for å indusere disse endringene hos atlantisk laks (Duston & Saunders, 1990; McCormick mfl., 2007; van Rijn mfl., 2020). Tidligere studier har vist at sesongmessig informasjon er nødvendig for å stimulere utviklingen av osmoregulerende kapasitet i smolt (Björnsson, 1997; McCormick mfl., 1998). Korte dager (vintersignal) etterfulgt av stadig lengre dager ser ut til å være en viktig «zeitgeber» (tidsgiver) for utvikling av sjøvannstoleranse med avgjørende betydning for videre vekst og overlevelse i sjø (Morro mfl., 2019). I denne studien ble det undersøkt i hvilken grad lysmanipulering påvirker smoltutviklingen hos domestisert atlantisk laks.

### 4.1 Vekst

Den noe reduserte tilveksten en opplevde hos fisk eksponert for en vinterperiode på seks uker, samsvarer med tidligere studier hvor vintersignal begrenser vektøkning i tillegg til at redusert daglengde medfører nedsatt appetitt (figur 10) (McCormick & Saunders, 1987; Skilbrei mfl., 1997; Solbakken mfl., 1994; Strand mfl., 2018). Den nedsatte appetitten på grunn av redusert lys synes å skyldes endringen fra fotopisk til skotopisk syn (nattsyn) når lysintensiteten faller under en viss terskel hvor de lysfølsomme fotoreseptorene i retina ikke lengre oppdager bevegelser og større objekter (Ali, 1959). Atlantisk laks er en visuell «spiser» og følgelig påvirker det fôringsopptaket i mørkeperioden (Thorpe mfl., 1988). Forskjellen i vektøkningen mellom gruppene antas å reflektere en prioritert lengdevekst og fettmobilisering, hvilket kan være tilfellet hos smoltifiserende lakseparr etter overføring til lang dag, slik det er vist i tidligere forsøk (Björnsson mfl., 2000; Komourdjian mfl., 1976; Saunders & Henderson, 1970). Dette er et kjent fenomen under smoltifiseringsprosessen som synes å skyldes endokrine reaksjoner

som omfatter en økning i sirkulerende plasmanivå av GH og kortisol som respons på den økende fotoperioden (Björnsson mfl., 2002; Striberny mfl., 2021). McCormick mfl. (1995) observerte en signifikant økning av GH innen tre uker etter overføring til økende daglengde. En vanlig observasjon under smoltifiseringsprosessen er redusert K-faktor som delvis skyldes de økte energikravene til smoltutviklingen, inkludert økt basal metabolsk hastighet, økt aktivitet samt redusert lipidinnhold (McCormick, 2013; McCormick mfl., 1987). Det ble ikke observert signifikante forskjeller i K-faktor mellom gruppene i forsøksperioden i denne studien, ei fra forsøksstart (figur 11). Denne observasjonen indikerer optimal fôring hvor ernæringsmessige velferdsbehov under forsøksperioden er dekket (Noble mfl., 2018).

Vekst og vekstrate har i lang tid vært benyttet som velferdsindikatorer i husdyrproduksjon (Broom, 1986), inkludert fisk (Huntingford & Kadri, 2009). Redusert vekstrate kan indikere at fisk står overfor en velferdstrussel (Huntingford mfl., 2006). En markant økning i vekst hos fisk eksponert for en vinterperiode ble observert etter dag 126, hvor denne gruppen innhenter den «tapte» tilveksten sammenlignet med fisk eksponert for kontinuerlig lysstyring. Tidligere forsøk har vist en dårligere vekst i sjøfasen hos smolt eksponert for kontinuerlig lys i ferskvannsfasen sammenlignet med smolt eksponert for en naturlig fotoperiode (Handeland & Stefansson, 2001). Dette kommer tydelig frem av SGR, hvor den prosentvise daglige tilveksten frem til dag 84 lå på 1,18% hos fisk eksponert for en vinterperiode, og øker til 1,80% etter dag 84 (tabell 2). Dette funnet korresponderer med resultatene hos Boeuf og Le Bail (1999), som rapporterte en økning i vekstrate hos fisk eksponert for en økende fotoperiode. En slik økning er ikke tilfellet for fisk eksponert for kontinuerlig lysstyring, hvor den daglige tilveksten frem til dag 84 lå på 1,47% og avtar til 1,30% etter dag 84.

#### **4.2 Smoltindeks**

Visuell vurdering av smoltindeks utføres i ferskvann for visuell vurdering av synlige morfologiske smoltifiseringstegn (Noble mfl., 2018). En fullt smoltifisert fisk har i sjøvann få osmoregulatoriske problemer (Duston, 1994). Det er derfor av avgjørende betydning å sikre at all fisk har fullført smoltifiseringen i forkant av overføring til sjø (Noble mfl., 2018). I dette forsøket synes ikke visuell vurdering av smoltindeks å være et tilfredsstillende kriterium for dokumentasjon av smoltifisering. Visuell smolt er ikke nødvendigvis en fysiologisk funksjonell smolt. Variasjon i fiskens vekstmønster kan forklare flere av forandringene av visuell smoltkarakter (Finstad & Iversen, 1995). En slik størrelsesrelatert visuell karakter, i dette tilfellet sølvfaring, er følgelig rapportert hos atlantisk laks og sølvlaks (*Oncorhynchus kisutch*) (Johnston & Eales, 1970; McMahon & Hartman, 1988). Ærø (2018) observerte tre ulike

utseendemessige versjoner av smoltkarakter hos lakseparr med en gjennomsnittsvekt på 2,7 gram, hvor en større andel var blank uten parrmerker, noe som stod i kontrast til utviklingen av sjøvannstoleransen i samme tidsrom (figur 26). Dette samsvarer med resultatene i denne studien, hvor fisk delvis hadde utviklet full smoltdrakt allerede ved forsøksstart (tabell 3), men viste ingen grad av sjøvannstoleranse på samme tidspunkt.



*Figur 26: Tre ulike utseendemessige versjoner av morfologisk parr og smolt som ble observert på en og samme produksjonsenhet i kommersielt anlegg. Bilde hentet fra Ærø (2018).*

### **4.3 Velferdsskåring**

Et morfologisk skåringssystem ble brukt for diagnostikk og klassifisering av viktige eksterne morfologiske skader under forsøket (Noble mfl., 2018). Finneskader er en velkjent trussel mot et dyrs velferd (Ellis mfl., 2008), og aktive finneskader kan representere en inngangsport for etablering av sykdomsfremkallende infeksjoner (Andrews mfl., 2015; Turnbull mfl., 1996). Nedbrytingen av epitelbarrieren under aktive finneskader kan forstyrre osmotisk homeostase og dermed forårsake alvorlig stress (Clayton mfl., 1998; Stien mfl., 2013). Arnold mfl. (1991) rapporterte redusert kapasitet til å holde seg i posisjon hos parr ved tap av brystfinner. Tidligere forsøk viser også en klar sammenheng mellom aggresjon og ryggfineskader hos parr (Jones mfl., 2010). En rekke faktorer kan medføre eller øke forekomsten av finneskader blant oppdrettsfisk, deriblant valg av produksjonssystem, konstruksjonsmateriale samt forskjellige oppdrettspraksiser (Noble mfl., 2012). En økende trend av aktiv finneskader ble observert under forsøksperioden (figur 12). En liten bedring ble observert midtveis, selv om skadene økte igjen på slutten av forsøksperioden. Det ble ikke observert markante forskjeller mellom gruppene.

Kolarevic mfl. (2014) rapporterte en samlet økende tendens til finneskader hos smolt, noe som er et hyppig funn i oppdrettssammenheng (Timmerhaus mfl., 2021).

Epidermale skader som skjelltap, sår og hudblødninger kan i likhet med aktive finneskader hemme den osmoregulatoriske evnen, og den epidermale tilstanden kan ha en markant innvirkning på velferden hos fisk (Bouck & Smith, 1979; Noble mfl., 2018). Særlig under smoltifiseringsprosessen er faren stor for epidermale skader, da skjellkledningen er løsere festet til huden, og osmoreguleringen på sitt mest sårbare (Hoar, 1976; Takle mfl., 2015). I likhet med aktive finneskader, ble det også observert en økende trend av både skjelltap og hudblødninger sammenlignet med forsøksstart (figur 13 og 14). For skjelltap ble en økende trend observert frem til midtveis av forsøket, for å så minke mot forsøkets slutfase. Når det gjelder hudblødninger ble en kraftig bedring observert midtveis, men øker igjen etter dag 98 og ut forsøkslutt. Det ble ikke observert markante forskjeller mellom gruppene for verken i skjelltap eller hudblødninger. Zydlewski mfl. (2010) rapporterte om osmoregulatoriske problemer hos smolt med skjelltap etter sjøsett. Videre viste Bouck og Smith (1979) eksperimentelt at smolt med 10% skjellavskrapning kan indusere stor dødelighet ved overføring til sjø. I kontrast til dette viser andre forsøk at skjelltap hos laks resulterer i mindre alvorlig innvirkning på ionisk homeostase i ferskvannsfasen (Gadomski mfl., 1994).

#### ***4.4 Osmoregulering – utvikling av sjøvannstoleranse***

##### ***4.4.1 Osmolalitet***

Utvikling av hypoosmoregulerende kapasitet er en viktig del av rammeverket for en fullstendig smolt. Uavhengig av det omgivende miljøet, forsøker fisk generelt å opprettholde en osmolalitet mellom 290-340 mOsm/kg, hvor betydelige avvik i lengre perioder vil medføre dødelighet (McCormick & Saunders, 1987; Noble mfl., 2018). Arnesen mfl. (1998) rapporterte en regelmessig osmolalitet i ferskvann tilnærmet 320 mOsm/kg, mens osmolaliteten i smoltifisert laks varierte mellom 325-345 mOsm/kg. Gjennomsnittlige verdier for plasmaosmolalitet ved forsøksstart i denne studien var 448 mOsm/kg (figur 15). Begge gruppene viste høye konsentrasjoner av plasmaosmolalitet de første seks ukene (> 340 mOsm/kg). Verdiene lå i det øvre sjiktet av det som var forventet hos fisk ved dette tidspunktet, hvor utviklingen av et optimalt apparat for hypoosmoregulering er fraværende. Dette underbygges ved at 29,17% av fisken ble registrert som svimere i løpet av sjøvannstestene i samme tidsrom, hvorav den lysmanipulerte gruppen utgjorde 43,75% (figur 25).



En reduksjon i plasmaosmolalitet er en vanlig observasjon hos fisk utsatt for sjøvannstest under smoltifiseringsprosessen (McCormick mfl., 2009). Etter overføring til kontinuerlig lys for fisk utsatt for en vinterperiode (8L:16M), reduserte osmolaliteten betraktelig, til signifikante lavere nivåer ved 70D og 84D sammenlignet med forsøksstart. Plasmaosmolaliteten var lavest ved dag 84 (332 mOsm/kg). Fisk eksponert for 24L:0M viste også signifikante lavere nivåer av osmolalitet i samme tidsrom sammenlignet med forsøksstart, men hadde en svakere osmoregulatorisk kapasitet sammenlignet med den lysmanipulerte fisken. Gjennomsnittlig plasmaosmolalitet for denne gruppen var lavest ved 98D (347 mOsm/kg). Videre observeres en avtagende hypoosmotisk kapasitet etter dag 98 i samme gruppe, noe som tyder på at fisken på dette tidspunktet begynner å miste hypoosmotisk sjøvannstoleranse som er karakteristisk for såkalt desmoltifisering hos fisk som holdes igjen i ferskvann (McCormick mfl., 1987). Det synes som gruppen utsatt for 8L:16M i seks uker utvikler en bedre osmoregulatorisk kapasitet og forlenger «smoltvinduet» før den begynner desmoltifiseringen sammenlignet med gruppen 24L:0M. Følgelig er fotoperiode en foreslående synkroniserende faktor, en «zeitgeber» relatert til smoltutviklingen i denne studien. Det er grunn til å anta at de noe lavere osmolalitetsnivåene ved et tidligere tidspunkt for fisk eksponert for en vinterperiode etterfulgt kontinuerlig lysstyring kommer av simuleringen av en økende daglengde, og viktigheten av fotoperiode som en avgjørende effekt på synkroniseringen og varigheten av smoltifiseringsprosessen.

#### **4.4.2 Plasmaioner**

Parr innehar en begrenset evne til utskilling av ioner, og direkte overføring til sjøvann kan medføre dødelighet (Noble mfl., 2018; Stefansson mfl., 2008). Under smoltifiseringsprosessen utvikler smolt økt sjøvannstoleranse som et resultat av den koordinerte utviklingen av de viktige osmoregulatoriske organene (McCormick, 2013). Rapporterte normalverdier av ionesammensetningen i blodplasma hos laksefisk i ferskvann ligger mellom 111-135 mM Cl<sup>-</sup>, 130-150 mM Na<sup>+</sup>, 0,9-1,5 mM Mg<sup>2+</sup> og 2,7 mM Ca<sup>2+</sup>. Tilsvarende verdier hos laksefisk i sjøvann er rapportert mellom 135-160 mM Cl<sup>-</sup>, 140-175 mM Na<sup>+</sup>, 1,6-2,0 mM Mg<sup>2+</sup> samt 3,3 mM Ca<sup>2+</sup> (Arnesen mfl., 1998; Edwards & Marshall, 2012; Handeland mfl., 2000; Handeland mfl., 1998; Iversen mfl., 2009; Noble mfl., 2018).

Ferskvannsverdier av både plasmaklorid (figur 16 og 17) og plasmanatrium (figur 18 og 19) for begge gruppene var relativt stabile og lå innenfor det som var forventet. Når det gjelder sjøvannstestene, endret plasmaklorid og -natrium seg i et lignende mønster som plasmaosmolalitet. Fisken hadde på dette tidspunktet ikke utviklet et optimalt apparat for eliminering av overflødig ioner i sjøvann, og en årsak til de høye plasmaverdiene kan skyldes

stress i forbindelse med direkte overføring fra ferskvann til sjøvann. Dette underbygges av antall svimere i samme tidsrom, som nevnt ovenfor. Tidligere studier slår fast at stress innehar en påvirkning på ionekonsentrasjonen i blod hos fisk, og at disse endringene er en del av sekundære stressresponser (Barton, 2002; Barton & Iwama, 1991; Iversen mfl., 1998). Anadrom laksefisk er tilsynelatende særlig utsatt for stress under smoltifisering, og det rapporteres om en naturlig økning i plasmakortisol under smoltifiseringsprosessen som kommer på toppen av en eventuell stressbelastning (Barton mfl., 1985; Iversen mfl., 1998).

Plasmaklorid var lavest ved dag 84 og ved dag 98 for henholdsvis lysmanipulert og kontinuerlig lysstyrt fisk. Tilsvarende var plasmanatrium lavest ved dag 70 og ved dag 98. Den noe senere utviklingen av optimal eliminering av overflødige ioner etter sjøvannstest hos fisk eksponert for kontinuerlig lysstyring kan være forårsaket av at sjøvannstoleranse ikke synes til å initieres optimalt uten at det etterfølges en økning i daglengde til minst 16 timer etter at fisken har vært utsatt for en vinterperiode (Duston & Saunders, 1990; Strand mfl., 2018). Dette samsvarer med observasjonene av plasmaosmolalitet ovenfor, og forsterker indikasjonen om en gunstig effekt av lysmanipulering. I kontrast til dette, viser nyere forskning at kontinuerlig lysstyrt fisk også synes å oppnå full sjøvannstoleranse. Striberny mfl. (2021) observerte en spontan utvikling av sjøvannstoleranse hos fisk eksponert for kontinuerlig lys i ferskvann. Dette funnet støttes av tidligere undersøkelser som også viser til en spontan utvikling av sjøvannstoleranse hos lakseparr uavhengig av fotoperiodiske signaler (Handeland mfl., 2013; Sigholt mfl., 1995; Strand mfl., 2018). Følgende utvikling av sjøvannstoleranse representerer dog ikke nødvendigvis en fullverdig smoltifisering (Sigholt mfl., 1998).

I likhet med plasmaklorid og plasmanatrium, var også ferskvannsverdier av plasmamagnesium (figur 20 og 21) og plasmakalsium (figur 22 og 23) relativt stabile og lå innenfor det som var forventet. Når det gjelder sjøvannstestene, var nivåene i all hovedsak synkende gjennom forsøksperioden frem til dag 84. Konsentrasjonene var relativt høy i begge gruppene frem til dette tidspunktet, og indikerer at gunstig regulering av de divalente ionene synes å ta noe lengre tid å etablere enn reguleringen av de monovalente ionene. Innholdet av ioner er langt lavere hos fisk i sjøvann enn omgivelsene. Dette medfører en forestående dehydrering samtidig som ioner trenger inn. For å holde vannet tilbake, må fisken derfor drikke sjøvann, og eliminere ioner for å kunne opprettholde den hypoosmotiske reguleringen. De divalente ionene skilles ut gjennom nyrene (Heggberget mfl., 1992). Renale endringer som følge av sjøvannstilpasningen inkluderer en kraftig reduksjon i GFR for å minimalisere vanntapet (Marshall & Grosell, 2006). I tillegg konserveres vann ved at det følger med når  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  reabsorberes fra nyretubuli,

samlekanaler og urinblære (Heggberget mfl., 1992). Reguleringen av plasmamagnesium og plasmakalsium etter dag 84 følger samme trend som både osmolalitet, plasmaklorid og plasmanatrium. Mens den lysmanipulerte gruppen regulerer nivåene på et lavere nivå frem til forsøkslutt, viste gruppen eksponert for kontinuerlig lys ikke samme trend. Tvert imot så klarer ikke denne gruppen å regulere like godt, og nivåene øker betraktelig mot forsøkslutt.

Kalsiumnivået i ferskvann (0,1 mM) og sjøvann (omtrent 10 mM) er henholdsvis lavere og høyere enn plasmanivået i fisk (2-3 mM) (Takei & Loretz, 2006). Kalsium lokaliseres i hovedsak i bein (Baeverfjord mfl., 2019) og skjell hos teleoster (Jamieson mfl., 2021). De ulike osmoregulerende mekanismene knyttet til smoltifiseringen hjelper til med å kontrollere opptaket av  $\text{Ca}^{2+}$  fra det ytre miljøet samt frigjøringen av  $\text{Ca}^{2+}$  fra interne lagre for å opprettholde homeostase i celler og vev (Domínguez mfl., 2019). Vitamin D er en viktig regulator for kalsium hos virveldyr (Norman mfl., 2002), og ser ut til å inneha samme funksjon i fisk (Graff mfl., 1999; Larsson mfl., 2003; Suzuki mfl., 2000). Vitamin  $\text{D}_3$  hydroksyleres til  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  og fraktes med proteiner i blodet før det tas opp i spesifikke målorganer hvor vitamin  $\text{D}_3$  kjernereseptorer (VDR) lokaliseres med høy affinitet for  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . Når metabolitten bindes til VDR, aktiveres gentranskripsjonen av et kalsiumbindende protein (CaBP) som sørger for økt kalsiumabsorpsjon over tarmen (Waagbø mfl., 2001). Paratyreoideahormon (PTH) og kalsitonin (CT) har vist å spille viktige roller i reguleringen av  $\text{Ca}^{2+}$  i teleoster (Guerreiro mfl., 2001; Mylonas mfl., 1994; Oughterson mfl., 1995). Hos pattedyr skilles PTH og CT ut fra paratyreoidea-kjertlen og tyreoidea-kjertelen (skjoldbruskkjertelen) (Fox mfl., 1999; Nemeth mfl., 1998). PTH gjenoppretter kalsiumnivåene ved å bruke beinkalsium, som resorberes av tarm og nyrer. Dette indikerer dermed at laks ikke mister kalsiumioner (Abbink & Flik, 2007; Guerreiro mfl., 2007), og forklarer hvorfor konsentrasjoner av plasmakalsium i enkelte perioder er lavere i sjøvann enn det i ferskvann, da fisken forsøker å deponere overskuddet av kalsium inne i skjelett og muskel. Kalsium innehar en grunnleggende rolle i effektiviteten av muskelsammentrekningskapasitet på cellenivå, noe som gjenspeiles av fiskens svømmeevne og er viktig for migrasjonen av smolt til sjøvann (Berchtold mfl., 2000; Domínguez mfl., 2019).

#### **4.4.3 NKA-enzymaktivitet**

NKA er et universelt membranbundet enzym som transporterer  $\text{Na}^+$  og  $\text{K}^+$  henholdsvis ut og inn av dyreceller (Lin mfl., 2003; McCormick, 1995). Enzymet finnes i høye konsentrasjoner i kloridcellene lokalisert i gjellene hos atlantisk laks (Borgatti mfl., 1992). Enzymaktiviteten korrelerer normalt med utviklingen av sjøvannstoleranse (McCormick mfl., 1995), og er en

regelmessig brukt indikator på smoltstatus hos laksefisk hvor nivåverdier opp mot 10  $\mu\text{mol ADP/mg protein/time}$  ofte brukes som en indikasjon på fullverdig smoltifisering (Noble mfl., 2018). Tidligere forskning viser en økning i NKA-enzymaktivitet på 3-10 ganger hos smoltifisert laksesmolt sammenlignet med basale enzymaktiviteter hos parr (Bisbal & Specker, 1991; Boeuf mfl., 1985; Langhorne & Simpson, 1986; McCormick & Saunders, 1987). To isoformer av underheten  $\text{NKA}\alpha$  assosieres med smoltifiseringsprosessen hos atlantisk laks, hvor  $\text{NKA}\alpha 1a$  og  $\text{NKA}\alpha 1b$  utgjør de dominerende isoformene i henholdsvis ferskvann og sjøvann (McCormick mfl., 2009). I forbindelse med smoltifiseringen øker mengden  $\text{NKA}\alpha 1b$  mRNA, samtidig som mengden  $\text{NKA}\alpha 1a$  avtar (Nilsen mfl., 2007). Det ble ikke gjennomført videre analyser i denne studien som kan bekrefte eller avkrefte dette.

Gjennomsnittlig NKA-enzymaktivitet ved forsøksstart i denne studien var 4,75  $\mu\text{mol ADP/mg protein/time}$ , og samsvarer med det som er å forvente ved dette stadiet hos ferskvannsadaptert laks (figur 24) (McCormick mfl., 1989). Laksesmolt eksponert for en vinterperiode etterfulgt av kontinuerlig lysstyring, viste en signifikant økning i enzymaktivitet etter dag 56. Høyeste gjennomsnittsverdier for denne gruppen ble målt ved dag 70 og 84 (ca. 14,4 og 14,2  $\mu\text{mol ADP/mg protein/time}$ ), hvor det også var en signifikant forskjell i NKA-enzymaktivitet mellom gruppene. Det ble ikke observert en signifikant økning hos fisk utsatt for kontinuerlig lysstyring i samme tidsrom. Det har tidligere blitt vist sammenheng mellom økt NKA-enzymaktivitet og økende fotoperiode. Stefansson mfl. (2007) rapportere en høyere økning i NKA-enzymaktivitet hos atlantisk laks i ferskvann eksponert for en naturlig fotoperiode kontra laks eksponert for kontinuerlig lysstyring i samme tidsrom. En slik økning i NKA-enzymaktivitet aksepteres som en indikator på god smoltkvalitet, og korresponderer med migrasjonen til det marine miljø, hypoosmoregulatorisk kapasitet og høy overlevelse i sjøvann (Handeland mfl., 2003; McCormick mfl., 1987). I kontrast til dette rapporterte Strand mfl. (2018) en sterkere økning i NKA-enzymaktivitet hos fisk eksponert for 24L:0M sammenlignet med fisk eksponert for 12L:12M og 6L:18M.

Fisk eksponert for kontinuerlig lysstyring viste en gradvis økning fra forsøksstart inkludert en nedgang ved dag 56, til høyeste gjennomsnittsverdi målt verdi ved dag 98 (7,47  $\mu\text{mol ADP/mg protein/time}$ ) (figur 21). Dette er noe lavere enn det som forventes hos en fullstendig smoltifisert laksefisk (Noble mfl., 2018), til tross for høye variasjoner innad i gruppen. Tidligere studier rapporterer om full sjøvannstoleranse 350 – 370 døgngader etter overføring til kontinuerlig lys (Handeland mfl., 2004; Strand mfl., 2018). Dette var tilfellet for den lysmanipulerte gruppen i denne studien, mens det hos fisk eksponert for kontinuerlig lys lå noe under det som var

forventet ved samme tidspunkt. Disse nåværende funnene samsvarer med tidligere studier hvor det rapporteres om en reduksjon eller fravær av økning av NKA-enzymaktivitet hos fisk eksponert for kontinuerlig lysstyring (Berge mfl., 1995; Björnsson mfl., 1995; Handeland & Stefansson, 2001). Strand mfl. (2018) viste derimot en økende NKA-enzymaktivitet hos fisk eksponert for 24L:0M, men ikke hos fisk eksponert for 12L:12M og 6L:18M. Det er noe paradoksalt at fisk eksponert for 12L:12M og 6L:18M i samme forsøk utviklet en markant bedre hypoosmoregulatorisk evne uten endringer i NKA-enzymaktivitet. Dette kan imidlertid relateres til økningen i størrelse, i følge Strand mfl. (2018). Økningen i NKA-enzymaktivitet hos fisk eksponert for kontinuerlig lysstyring stemte overens med økningen i plasmanivåer av GH. Mangel på økning i GH-nivåer hos fisk eksponert for 12L:12M og 6L:12M samsvarte med mangelen på økningen i NKA-enzymaktivitet i disse gruppene (Strand mfl., 2018).

Tap av NKA-enzymaktivitet er observert hos flere anadrome laksefisk når fisk holdes tilbake i ferskvann (Boeuf mfl., 1985; Duston mfl., 1991; Saunders & Henderson, 1978; Solbakken mfl., 1994; Zaugg & Wagner, 1973). I oppdrett er tidspunktet for overføringen av smolt til sjøvann avgjørende for den påfølgende prestasjon som postsmolt (Hoar, 1988). Det er tidligere foreslått et forhold mellom døgngader og NKA-enzymaktivitet (Stefansson mfl., 1998). McCormick mfl. (1999) rapporterte et smoltvindu på omtrent 200 døgngradet etter observert toppnivå av NKA-enzymaktivitet. Dette korresponderer med resultatene hos den lysmanipulerte gruppen i denne studien, hvor smoltvinduet er beregnet til å være rundt 196 døgngader etterfulgt av en reduksjon i enzymaktiviteten. Hos atlantisk laks vil en reduksjon i sjøvannstoleranse oppstå dersom fisken ikke overføres til sjøvann i smoltvinduet (McCormick & Saunders, 1987). Handeland mfl. (2004) rapporterte om avtagende NKA-enzymaktivitet omtrent 600 døgngader etter overføring til kontinuerlig lys. Dette korresponderer også godt med observasjonene for den lysmanipulerte gruppen som viser en kraftig reduksjon i NKA-enzymaktivitet etter 84D sammenlignet med toppnivåene ved dag 70 og 84. Etter dag 98 observeres en kraftig nedgang i enzymaktivitet hos den kontinuerlig lysstyrte gruppen, og det er derfor trolig at fisken hadde påbegynt desmoltifisering ved dette tidspunktet. Den lysmanipulerte gruppen opprettholder enzymaktiviteten ved et høyere nivå i en noe lengre periode.

#### ***4.5 Effekten av lysstyring på atlantisk laksesmolt***

Hos flere anadrome laksefisk er det rapportert om et forhold mellom fotoperiode, veksthastighet og smoltifisering (Björnsson mfl., 1989; Brauer, 1982; Clarke mfl., 1978, 1981; Komourdjian mfl., 1976). Tidligere forskning viser at en reduksjon i fotoperiode, med påfølgende eksponering for gradvis økende eller kontinuerlig lysstyring, er en nødvendighet for utviklingen

av hypoosmoregulerende kapasitet i off-season laksesmolt (Berge mfl., 1995; Duncan & Bromage, 1998; Duston & Saunders, 1995; Thrush mfl., 1994). Duncan og Bromage (1998) rapporterte at en forberedende kortdagsperiode på minst seks uker etterfulgt av kontinuerlig lysstyring var nødvendig for å fullføre en vellykket smoltifisering av off-season atlantisk laksesmolt. Dette underbygges av nyere studier, som også viser til at en eksponering for en kort vinterperiode på minst seks uker, etterfulgt av en påfølgende økning i fotoperiode, er nødvendig for å stimulere smoltifisering hos atlantisk laks (Ebbesson mfl., 2007; Handeland & Stefansson, 2001; Strand mfl., 2018). Med det for øyet, er kontinuerlig lysstyring (24L:0M) i dag en ofte brukt strategi for å fremskynde vekst hos lakseparr (Ærø, 2018). Forlenget bruk av et slikt ekstremt lysregime, fratrar pre-smolt informasjon om sesongmessige signaler. I fravær av et slikt fotoperiodesignal, forstyrres smoltifiseringen på flere nivåer (Ebbesson mfl., 2007). Forsøk tyder på at det endokrine system forblir underutviklet, med redusert sirkulasjonsnivåer av flere viktige hormoner tilknyttet smoltifiseringsprosessen (Björnsson mfl., 2000; Björnsson mfl., 1995; McCormick mfl., 1995; Stefansson mfl., 1991). Eksempler på konsekvenser av slik hypoendokrin status inkluderer blant annet nedsatt utvikling av NKA-enzymaktivitet samt redusert hypoosmoregulerende evne (Björnsson, 1997; Björnsson mfl., 1995; McCormick, 2001). Strand mfl. (2018) viste derimot at kontinuerlig lysstyrt fisk også synes å oppnå optimal sjøvannstoleranse. Tidligere forsøk viser i tillegg til en spontan utvikling i sjøvannstoleranse hos størrelsesrelatert laksesmolt eksponert for 24L:0M (Handeland mfl., 2013; Sigholt mfl., 1995; Strand mfl., 2018). Det bør likevel gjøres et poeng av at smoltifiseringsprosessen er en synkroniseringsprosess av flere ulike komponenter. En optimal sjøvannstilvendt laks er ikke nødvendigvis en optimal smolt. I denne undersøkelsen synes tidspunkt og varighet for utvikling av hypoosmoregulerende kapasitet å være utelukkende relatert til økningen i fotoperioden.

## 5.0 Konklusjon

Resultatene fra denne studien viser at en kan forkaste  $H_0$  og  $H_1$  da lysmanipulering påvirker smoltutviklingen og utsetter desmoltifiseringen. Videre synes ikke lysstyring å påvirke osmoregulatorisk kapasitet eller fiskevelferd i nevneverdig grad, og  $H_2$  må derfor aksepteres. Lysmanipuleringen synes å forlenge perioden fisk har optimal osmoreguleringskapasitet, dvs. tiden det tar før den desmoltifiserer. Fisk eksponert for en kort daglengde presterte bedre under forsøksperioden sammenlignet med fisk eksponert for kontinuerlig lysstyring, med hensyn til utvikling av sjøvannstoleranse. Overgangen fra ferskvann til sjøvann representerer enorme forandringer som er nødvendige for preadaptasjonen til det marine miljø. Forandringene omfatter både morfologiske, atferdsmessige og fysiologiske aspekter, som alle er av avgjørende betydning for videre vekst og overlevelse. Eksponeringen til kort daglengde synes å igangsette prosesser som forbereder fiskens synkroniseringsprosess av de ulike komponentene for utvikling av en vellykket smoltifisering, og således påvirke tidspunkt for desmoltifisering. Optimal osmoregulatorisk kapasitet med et utvidet smoltvindu, vil være fordelaktig for overføring til sjø. Bruk av lysmanipulering for utvikling av en vellykket smolt bør derfor vurderes som meget aktuelt for lakseoppdrettere med hensyn til videre vekst og fiskevelferd i sjøfasen.

## Referanser

- Abbink, W., & Flik, G. (2007). Parathyroid hormone-related protein in teleost fish. *General and Comparative Endocrinology*, 152(2-3), 243-251.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2006.11.010>
- Ali, M. A. (1959). The ocular structure, retinomotor and photobehavioral responses of juvenile Pacific salmon. *Canadian Journal of Zoology*, 37(6), 965-996.  
doi:<https://doi.org/10.1139/z59-092>
- Andrews, M., Stormoen, M., Schmidt-Posthaus, H., Wahli, T., & Midtlyng, P. J. (2015). Rapid temperature-dependent wound closure following adipose fin clipping of Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 38(6), 523-531.  
doi:<https://doi.org/10.1111/jfd.12261>
- Arnesen, A. M., Johnsen, H. K., Mortensen, A., & Jobling, M. (1998). Acclimation of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts to 'cold' sea water following direct transfer from fresh water. *Aquaculture*, 168(1-4), 351-367. doi:[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00361-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00361-5)
- Arnesen, A. M., Toften, H., Agustsson, T., Stefansson, S. O., Handeland, S. O., & Björnsson, B. T. (2003). Osmoregulation, feed intake, growth and growth hormone levels in 0+ Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) transferred to seawater at different stages of smolt development. *Aquaculture*, 222(1-4), 167-187. doi:[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00109-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00109-1)
- Arnold, G. P., Webb, P. W., & Holford, B. H. (1991). The role of the pectoral fins in station-holding of Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.). *Journal of Experimental Biology*, 156(1), 625-629. doi:<https://doi.org/10.1242/jeb.156.1.625>
- Baeverfjord, G., Antony Jesu Prabhu, P., Fjelldal, P. G., Albrektsen, S., Hatlen, B., Denstadli, V., Ytteborg, E., Takle, H., Lock, E., Berntssen, M. H. G., Lundebye, A., Åsgård, T., & Waabø, R. (2019). Mineral nutrition and bone health in salmonids. *Reviews in Aquaculture*, 11(3), 740-765. doi:<https://doi.org/10.1111/raq.12255>
- Barton, B. A. (2002). Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, 42(3), 517-525. doi:<https://doi.org/10.1093/icb/42.3.517>
- Barton, B. A., & Iwama, G. K. (1991). Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases*, 3-26. doi:[https://doi.org/10.1016/0959-8030\(91\)90019-G](https://doi.org/10.1016/0959-8030(91)90019-G)
- Barton, B. A., Schreck, C. B., Ewing, R. D., Hemmingsen, A. R., & Patino, R. (1985). Changes in plasma cortisol during stress and smoltification in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *General and Comparative Endocrinology*, 59(3), 468-471. doi:[https://doi.org/10.1016/0016-6480\(85\)90406-X](https://doi.org/10.1016/0016-6480(85)90406-X)
- Berchtold, M. W., Brinkmeier, H., & Muntener, M. (2000). Calcium ion in skeletal muscle: Its crucial role for muscle function, plasticity, and disease. *Physiological Reviews*, 80(3), 1215-1265. doi:<https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.3.1215>
- Berge, Å. I., Berg, A., Barnung, T., Hansen, T., Fyhn, H. J., & Stefansson, S. O. (1995). Development of salinity tolerance in underyearling smolts of Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared under different photoperiods. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52(2), 243-251. doi:<https://doi.org/10.1139/f95-024>
- Bisbal, G. A., & Specker, J. L. (1991). Cortisol stimulates hypo-osmoregulatory ability in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Biology*, 39(3), 421-432. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1991.tb04373.x>
- Björnsson, B. T. (1997). The biology of salmon growth hormone: From daylight to dominance. *Fish Physiology and Biochemistry*, 17(1), 9-24. doi:<https://doi.org/10.1023/A:1007712413908>



- Björnsson, B. T., Hemre, G., Bjørnevik, M., & Hansen, T. (2000). Photoperiod regulation of plasma growth hormone levels during induced smoltification of underyearling Atlantic salmon. *General and Comparative Endocrinology*, *119*(1), 17-25. doi:<https://doi.org/10.1006/gcen.2000.7439>
- Björnsson, B. T., Johansson, V., Benedet, S., Einarsdottir, I. E., Hildahl, J., Agustsson, T., & Jönsson, E. (2002). Growth hormone endocrinology of salmonids: Regulatory mechanisms and mode of action. *Fish Physiology and Biochemistry*, *27*(3), 227-242. doi:<https://doi.org/10.1023/B:FISH.0000032728.91152.10>
- Björnsson, B. T., Stefansson, S. O., & Hansen, T. (1995). Photoperiod regulation of plasma growth hormone levels during parr-smolt transformation of Atlantic salmon: Implications for hypoosmoregulatory ability and growth. *General and Comparative Endocrinology*, *100*(1), 73-82. doi:<https://doi.org/10.1006/gcen.1995.1135>
- Björnsson, B. T., Stefansson, S. O., & McCormick, S. D. (2011). Environmental endocrinology of salmon smoltification. *General and Comparative Endocrinology*, *170*(2), 290-298. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.07.003>
- Björnsson, B. T., Thorarensen, H., Hirano, T., Ogasawara, T., & Kristinsson, J. B. (1989). Photoperiod and temperature affect plasma growth hormone levels, growth, condition factor and hypoosmoregulatory ability of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) during parr-smolt transformation. *Aquaculture*, *82*(1-4), 77-91. doi:[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(89\)90397-9](https://doi.org/10.1016/0044-8486(89)90397-9)
- Blackburn, J., & Clarke, W. C. (1987). Revised procedure for the 24 hour seawater challenge test to measure seawater adaptability of juvenile salmonids. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, *1515*.
- Boeuf, G., & Le Bail, P. (1999). Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture*, *177*(1-4), 129-152. doi:[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00074-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00074-5)
- Boeuf, G., Le Roux, A., Gaignon, J. L., & Harache, Y. (1985). Gill (Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>)-ATPase activity and smolting in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in France. *Aquaculture*, *45*(1-4), 73-81. doi:[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(85\)90259-5](https://doi.org/10.1016/0044-8486(85)90259-5)
- Borgatti, A. R., Pagliarani, A., & Ventrella, V. (1992). Gill (Na<sup>+</sup> + K<sup>+</sup>)-ATPase involvement and regulation during salmonid adaptation to salt water. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, *102*(4), 637-643. doi:[https://doi.org/10.1016/0300-9629\(92\)90717-5](https://doi.org/10.1016/0300-9629(92)90717-5)
- Bouck, G. R., & Smith, S. D. (1979). Mortality of experimentally descaled smolts of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in fresh and salt water. *Transactions of the American Fisheries Society*, *108*(1), 67-69. doi:[https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1979\)108<67:MOEDSO>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1979)108<67:MOEDSO>2.0.CO;2)
- Brauer, E. P. (1982). The photoperiod control of coho salmon smoltification. *Aquaculture*, *28*(1-2), 105-111. doi:[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(82\)90013-8](https://doi.org/10.1016/0044-8486(82)90013-8)
- Brett, J. R. (1979). Environmental factors and growth. In *Fish physiology vol. VIII*. (pp. 599-677). New York: Academic Press.
- Broom, D. M. (1986). Indicators of poor welfare. *British Veterinary Journal*, *142*(6), 524-526. doi:[https://doi.org/10.1016/0007-1935\(86\)90109-0](https://doi.org/10.1016/0007-1935(86)90109-0)
- Brun, E. (2021). Helse og velferd, en forutsetning for vekst og utvikling. In I. Sommerset, B. Bang Jensen, G. Bornø, A. Haukaas, & E. Brun (Eds.), *Fiskehelse rapporten 2020* (pp. 4-5). Oslo: Veterinærinstituttet.
- Clarke, W. C., Shelbourn, J. E., & Brett, J. R. (1978). Growth and adaptation to sea water in 'underyearling' sockeye (*Oncorhynchus nerka*) and coho (*O. kisutch*) salmon subjected to regimes of constant or changing temperature and day length. *Canadian Journal of Zoology*, *56*(11), 2413-2421. doi:<https://doi.org/10.1139/z78-326>

- Clarke, W. C., Shelbourn, J. E., & Brett, J. R. (1981). Effect of artificial photoperiod cycles, temperature, and salinity on growth and smolting in underyearling coho (*Oncorhynchus kisutch*), chinook (*O. tshawytscha*), and sockeye (*O. nerka*) salmon. *Aquaculture*, 22, 105-116. doi:[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(81\)90137-X](https://doi.org/10.1016/0044-8486(81)90137-X)
- Clayton, R. D., Stevenson, T. L., & Summerfelt, R. C. (1998). Fin erosion in intensively cultured walleyes and hybrid walleyes. *The Progressive Fish-Culturist*, 60(2), 114-118. doi:[https://doi.org/10.1577/1548-8640\(1998\)060<0114:FEIICW>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8640(1998)060<0114:FEIICW>2.0.CO;2)
- Cooke, S. J., Crossin, G. T., & Hinch, S. G. (2011). Pacific salmon migration: Completing the cycle. In A. P. Farrell (Ed.), *Encyclopedia of fish physiology: From genome to environment* (3 ed., pp. 1945-1952). San Diego: Academic Press.
- Domínguez, F. J., Pontigo, J. P., Oyarzún, R., Vargas-Lagos, C., Morera, F. J., & Vargas-Chacoff, L. (2019). The expression pattern of calcium signaling-related genes during smoltification of *Salmo salar* in productive conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 231, 20-25. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2019.02.002>
- Duncan, N. J., & Bromage, N. (1998). The effect of different periods of constant short days on smoltification in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 168(1-4), 369-386. doi:[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00363-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00363-9)
- Duston, J. (1994). Effect of salinity on survival and growth of Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr and smolts. *Aquaculture*, 121(1-3), 115-124. doi:[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90013-2](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90013-2)
- Duston, J., & Saunders, R. L. (1990). The entrainment role of photoperiod on hypoosmoregulatory and growth-related aspects of smolting in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Zoology*, 68(4), 707-715. doi:<https://doi.org/10.1139/z90-103>
- Duston, J., & Saunders, R. L. (1995). Advancing smolting to autumn in age 0+ Atlantic salmon by photoperiod, and long-term performance in sea water. *Aquaculture*, 135(4), 295-309. doi:[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)01034-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01034-3)
- Duston, J., Saunders, R. L., & Knox, D. E. (1991). Effects of increases in freshwater temperature on loss of smolt characteristics in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48(2), 164-169. doi:<https://doi.org/10.1139/f91-022>
- Ebbesson, L. O. E., Ebbesson, S. O. E., Nilsen, T. O., Stefansson, S. O., & Holmqvist, B. (2007). Exposure to continuous light disrupts retinal innervation of the preoptic nucleus during parr-smolt transformation in Atlantic salmon. *Aquaculture*, 273(2-3), 345-349. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.10.016>
- Ebbesson, L. O. E., Ekström, P., Ebbesson, S. O. E., Stefansson, S. O., & Holmqvist, B. (2003). Neural circuits and their structural and chemical reorganization in the light-brain-pituitary axis during parr-smolt transformation in salmon. *Aquaculture*, 222(1-4), 59-70. doi:[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00102-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00102-9)
- Edwards, S. L., & Marshall, W. S. (2012). Principles and patterns of osmoregulation and euryhalinity in fishes. In S. D. McCormick, A. P. Farrell, & C. J. Brauner (Eds.), *Euryhaline fishes* (pp. 1-44). Oxford: Academic Press.
- Ellis, T., Oidtmann, B., St-Hilaire, S., Turnbull, J. F., North, B. P., MacIntyre, C. M., Nikolaidis, J., Hoyle, I., Kestin, S. C., & Knowles, T. G. (2008). Fin erosion in farmed fish. In E. J. Branson (Ed.), *Fish welfare* (pp. 121-149). Oxford: Blackwell Publishing.
- Evans, D. H. (2008). Teleost fish osmoregulation: What have we learned since August Krogh, Homer Smith, and Ancel Keys. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 295(2). doi:<https://doi.org/10.1152/ajpregu.90337.2008>

- Evans, D. H. (2011). Mechanisms of gill salt secretion in marine teleost. In A. P. Farrell (Ed.), *Encyclopedia of fish physiology: From genome to environment* (pp. 1354-1358). London: Academic Press.
- Evans, D. H., Piermarini, P. M., & Choe, K. P. (2005). The multifunctional fish gill: Dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiological Reviews*, *85*(1), 97-177. doi:<https://doi.org/10.1152/physrev.00050.2003>
- Finstad, B., & Iversen, M. (1995). Testing av smoltkvaliteten hos laks og sjøørret på smoltproduksjonsanleggene i Eidfjord, Eikesdalen og Lundamo. *NINA Oppdragsmelding*, *341*, 1-21. Retrieved from <https://nina.no/archive/nina/PppBasePdf/oppdragsmelding/341.pdf>
- Fiskeridirektoratet. (2020, 29. oktober). Antall solgt smolt/settefisk for utsett i sjø etter art og fylke. Retrieved from <https://www.fiskeridir.no/Akvakultur/Tall-og-analyse/Akvakulturstatistikk-tidsserier/Laks-regnbueoerret-og-oerret/Settefiskproduksjon>
- Fox, J., Lowe, S. H., Conklin, R. L., Petty, B. A., & Nemeth, E. F. (1999). Calcimimetic compound NPS R-568 stimulates calcitonin secretion but selectively targets parathyroid gland Ca<sup>2+</sup> receptor in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *290*(2), 480-486.
- Gadomski, D. M., Mesa, M. G., & Olson, T. M. (1994). Vulnerability to predation and physiological stress responses of experimentally descaled juvenile chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Environmental Biology of Fishes*, *39*(2), 191-199. doi:<https://doi.org/10.1007/BF00004937>
- Graff, I. E., Lie, Ø., & Aksnes, L. (1999). In vitro hydroxylation of vitamin D<sub>3</sub> and 25-hydroxy vitamin D<sub>3</sub> in tissues of Atlantic salmon *Salmo salar*, Atlantic mackerel *Scomber scombrus*, Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* and Atlantic cod *Gadus morhua*. *Aquaculture Nutrition*, *5*(1), 23-32. doi:<https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.1999.00084.x>
- Gu, J., & Grønbech, S. (2019). Dårlig smoltkvalitet og tapersyndrom. In B. Hjeltnes, B. Bang Jensen, G. Bornø, A. Haukaas, & C. S. Walde (Eds.), *Fiskehelse rapporten 2018* (pp. 100-101). Oslo: Veterinærinstituttet.
- Guerreiro, P. M., Fuentes, J., Power, D. M., Ingleton, P. M., Flik, G., & Canario, A. V. M. (2001). Parathyroid hormone-related protein: A calcium regulatory factor in sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, *281*(3), 855-860. doi:<https://doi.org/10.1152/ajpregu.2001.281.3.R855>
- Guerreiro, P. M., Renfro, J. L., Power, D. M., & Canario, A. V. M. (2007). The parathyroid hormone family of peptides: Structure, tissue distribution, regulation, and potential functional roles in calcium and phosphate balance in fish. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, *292*(2), 679-696. doi:<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00480.2006>
- Handeland, S., Imsland, A., Björnsson, B. T., & Stefansson, S. (2013). Long-term effects of photoperiod, temperature and their interaction on growth, gill Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity, seawater tolerance and plasma growth-hormone levels in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Journal of Fish Biology*, *83*(5), 1197-1209. doi:<https://doi.org/10.1111/jfb.12215>
- Handeland, S. O., Arnesen, A. M., & Stefansson, S. O. (2003). Seawater adaptation and growth of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) of wild and farmed strains. *Aquaculture*, *220*(1-4), 367-384. doi:[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00508-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00508-2)

- Handeland, S. O., Berge, Å., Björnsson, B. T., Lie, Ø., & Stefansson, S. O. (2000). Seawater adaptation by out-of-season Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts at different temperatures. *Aquaculture*, 181(3-4), 377-396. doi:[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00241-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00241-0)
- Handeland, S. O., Berge, Å., Björnsson, B. T., & Stefansson, S. O. (1998). Effects of temperature and salinity on osmoregulation and growth of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts in seawater. *Aquaculture*, 168(1-4), 289-302. doi:[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00356-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00356-1)
- Handeland, S. O., & Stefansson, S. O. (2001). Photoperiod control and influence of body size on off-season parr-smolt transformation and post-smolt growth. *Aquaculture*, 192(2-4), 291-307. doi:[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00457-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00457-9)
- Handeland, S. O., Wilkinson, E., Sveinsbø, B., McCormick, S. D., & Stefansson, S. O. (2004). Temperature influence on the development and loss of seawater tolerance in two fast-growing strains of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 233(1-4), 513-529. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.08.028>
- Heggberget, T. G., Staurnes, M., Strand, R., & Husby, J. (1992). *Smoltifisering hos laksefisk*. (NINA forskningsrapport 31: 1-42). Retrieved from <https://www.nina.no/archive/nina/pppbasepdf/forskningsrapport/031.pdf>
- Hjeltnes, B. (2019). En nasjonal dugnad for fiskehelse må til. In B. Hjeltnes, B. Bang Jensen, G. Bornø, A. Haukaas, & C. S. Walde (Eds.), *Fiskehelse rapporten 2018* (pp. 4-5). Oslo: Veterinærinstituttet
- Hjeltnes, B., Bang Jensen, B., Bornø, G., Haukaas, A., & Walde, C. S. (2019). *Fiskehelse rapporten 2018*. (6a/2019). Retrieved from [file:///Users/inemeland/Downloads/Fiskehelse rapporten%202018%20norsk-enkeltsider%20\(6\).pdf](file:///Users/inemeland/Downloads/Fiskehelse%20rapporten%202018%20norsk-enkeltsider%20(6).pdf)
- Hoar, W. S. (1976). Smolt transformation: Evolution, behavior, and physiology. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 33(5), 1233-1252. doi:<https://doi.org/10.1139/f76-158>
- Hoar, W. S. (1988). The physiology of smolting Salmonids. In W. S. Hoar & D. J. Randall (Eds.), *The physiology of developing fish: Eggs and larvae* (pp. 275-343). San Diego: Academic Press.
- Holmqvist, B. I., Östholm, T., & Ekström, P. (1992). Retinohypothalamic Projections and the Suprachiasmatic Nucleus of the Teleost Brain. In M. A. Ali (Ed.), *Rhythms in Fishes* (pp. 293-318). Boston: Springer US.
- Holmqvist, B. I., Östholm, T., & Ekström, P. (1994). Neuroanatomical analysis of the visual and hypophysiotropic systems in Atlantic salmon (*Salmo salar*) with emphasis on possible mediators of photoperiodic cues during parr-smolt transformation. *Aquaculture*, 121(1-3), 1-12. doi:[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90003-5](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90003-5)
- Huntingford, F. A., Adams, C., Braithwaite, V. A., Kadri, S., Pottinger, T. G., Sandøe, P., & Turnbull, J. F. (2006). Current issues in fish welfare. *Journal of Fish Biology*, 70(4), 1311-1316. doi:<https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2006.001046.x>
- Huntingford, F. A., & Kadri, S. (2009). Taking account of fish welfare: Lessons from aquaculture. *Journal of Fish Biology*, 75(10), 2862-2867. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02465.x>
- Hwang, P., & Lee, T. (2007). New insights into fish ion regulation and mitochondrion-rich cells. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 148(3), 479-497. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.06.416>
- Hwang, P., Lee, T., & Lin, L. (2011). Ion regulation in fish gills: Recent progress in the cellular and molecular mechanisms. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 301(1), 28-47. doi:<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00047.2011>

- Hwang, P., & Lin, L. (2013). Gill ionic transport, acid-base regulation, and nitrogen excretion. In D. H. Evans, J. B. Caliborne, & S. Currie (Eds.), *The physiology of fishes* (4 ed., pp. 205-233). Florida: CRC Press.
- Iversen, M., Eliassen, R. A., & Finstad, B. (2009). Potential benefit of clove oil sedation on animal welfare during salmon smolt, *Salmo salar* L. transport and transfer to sea. *Aquaculture Research*, 40(2), 233-241. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02091.x>
- Iversen, M., Finstad, B., & Nilssen, K. J. (1998). Recovery from loading and transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts. *Aquaculture*, 168(1-4), 387-394. doi:[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00364-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00364-0)
- Iversen, M. H., & Eliassen, R. A. (2014). The effect of allostatic load on hypothalamic–pituitary–interrenal (HPI) axis before and after secondary vaccination in Atlantic salmon postsmolts (*Salmo salar* L.). *Fish Physiology and Biochemistry*, 40(2), 527-538. doi:<https://doi.org/10.1007/s10695-013-9863-x>
- Jakobsen, R. (2013). *Smoltifisering hos Atlantisk laks (Salmo salar L.): Betydning av stress, temperatur og akklimering*. (Masteravhandling, Nord universitet). Retrieved from [https://nordopen.nord.no/nord-xmlui/bitstream/handle/11250/141201/Jakobsen\\_Roald.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://nordopen.nord.no/nord-xmlui/bitstream/handle/11250/141201/Jakobsen_Roald.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Jamieson, L., Waters, A., Ho, K. E., Chan, H. Y. S., Hung, J. T., Webb, S. E., Chan, C. M., Shipley, A. M., Williamson, J. G., Beer, J., Angus, C., & Miller, A. L. (2021). Short-term homeostatic regulation of blood/interstitial fluid Ca<sup>2+</sup> concentration by the scales of anadromous sea trout *Salmo trutta* L. during smoltification and migration. *Journal of Fish Biology*, 98(1), 17-32. doi:<https://doi.org/10.1111/jfb.14553>
- Jensen, I., Overrein, M. C., Fredriksen, B. N., Strandskog, G., & Seternes, T. (2019). Differences in smolt status affect the resistance of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) against infectious pancreatic necrosis, while vaccine-mediated protection is unaffected. *Journal of Fish Diseases*, 42(9), 1271-1282. doi:<https://doi.org/10.1111/jfd.13049>
- Johnston, C. E., & Eales, J. G. (1967). Purines in the integument of the Atlantic salmon (*Salmo salar*) during parr–smolt transformation. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 24(5), 955-964. doi:<https://doi.org/10.1139/f67-085>
- Johnston, C. E., & Eales, J. G. (1970). Influence of body size on silvering of Atlantic salmon (*Salmo salar*) at parr–smolt transformation. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 27(5), 983-987. doi:<https://doi.org/10.1139/f70-114>
- Jones, H. A. C., Hansen, L. A., Noble, C., Damsgård, B., Broom, D. M., & Pearce, G. P. (2010). Social network analysis of behavioural interactions influencing fin damage development in Atlantic salmon (*Salmo salar*) during feed-restriction. *Applied Animal Behaviour Science*, 127(3-4), 139-151. doi:<https://doi.org/10.1016/j.applanim.2010.09.004>
- Kolarevic, J., Baeverfjord, G., Takle, H., Ytteborg, E., Reiten, B. K. M., Nergård, S., & Terjesen, B. F. (2014). Performance and welfare of Atlantic salmon smolt reared in recirculating or flow through aquaculture systems. *Aquaculture*, 432, 15-25. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.03.033>
- Komourdjian, M. P., Saunders, R. L., & Fenwick, J. C. (1976). Evidence for the role of growth hormone as a part of a 'light–pituitary axis' in growth and smoltification of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Zoology*, 54(4), 544-551. doi:<https://doi.org/10.1139/z76-062>
- Kryvi, H., & Poppe, T. (2016). *Fiskeanatomi*. Bergen: Fagbokforlaget.

- Langhorne, P., & Simpson, T. H. (1986). The interrelationship of cortisol, gill (Na<sup>+</sup> K) ATPase, and homeostasis during the parr-smolt transformation of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *General and Comparative Endocrinology*, 61(2), 203-213. doi:[https://doi.org/10.1016/0016-6480\(86\)90198-X](https://doi.org/10.1016/0016-6480(86)90198-X)
- Larsson, D., Nemere, I., Aksnes, L., & Sundell, K. (2003). Environmental salinity regulates receptor expression, cellular effects, and circulating levels of two antagonizing hormones, 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 24, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, in rainbow trout. *Endocrinology*, 144(2), 559-566. doi:<https://doi.org/10.1210/en.2002-220779>
- Lin, Y. M., Chen, C. N., & Lee, T. H. (2003). The expression of gill Na, K-ATPase in milkfish, *Chanos chanos*, acclimated to seawater, brackish water and fresh water. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 135(3), 489-497. doi:[https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(03\)00136-3](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(03)00136-3)
- Lubin, R. T., Rourke, A. W., & Saunders, R. L. (1991). Influence of photoperiod on the number and ultrastructure of gill chloride cells of the Atlantic salmon (*Salmo salar*) before and during smoltification. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48(7), 1302-1307. doi:<https://doi.org/10.1139/f91-156>
- Lundqvist, H., & Eriksson, L. (1985). Annual rhythms of swimming behaviour and seawater adaptation in young Baltic salmon, *Salmo salar*, associated with smolting. *Environmental Biology of Fishes*, 14(4), 259-267. doi:<https://doi.org/10.1007/BF00002629>
- Marshall, W. S. (2002). Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, Ca<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> transport by fish gills: Retrospective review and prospective synthesis. *Journal of Experimental Zoology*, 293(3), 264-283. doi:<https://doi.org/10.1002/jez.10127>
- Marshall, W. S., & Grosell, M. (2006). Ion transport, osmoregulation, and acid-base balance. In D. H. Evans & J. B. Caliborne (Eds.), *The physiology of fishes* (3 ed., pp. 177-230). Boca Raton: CRC Press.
- Mattilsynet. (2011). *Regionalt tilsynsprosjekt 2011. Prosjekt overlevelse fisk*. Retrieved from [https://www.mattilsynet.no/fisk\\_og\\_akvakultur/fiskevelferd/regional\\_tilsynskampane\\_2011\\_prosjekt\\_overlevelse\\_fisk\\_sluttrapport.5933/binary/Regional%20tilsynskampane%202011:%20Prosjekt%20overlevelse%20fisk%20-%20sluttrapport](https://www.mattilsynet.no/fisk_og_akvakultur/fiskevelferd/regional_tilsynskampane_2011_prosjekt_overlevelse_fisk_sluttrapport.5933/binary/Regional%20tilsynskampane%202011:%20Prosjekt%20overlevelse%20fisk%20-%20sluttrapport)
- Mattilsynet. (2014). *Tap av laksefisk i sjø*. Retrieved from [https://www.mattilsynet.no/fisk\\_og\\_akvakultur/fiskevelferd/tap\\_av\\_laksefisk\\_i\\_sjo\\_2014.15430/binary/Tap%20av%20laksefisk%20i%20sj%C3%B8%20\(2014\)](https://www.mattilsynet.no/fisk_og_akvakultur/fiskevelferd/tap_av_laksefisk_i_sjo_2014.15430/binary/Tap%20av%20laksefisk%20i%20sj%C3%B8%20(2014))
- McCormick, S. D. (1993). Methods for nonlethal gill biopsy and measurement of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50(3), 656-658. doi:<https://doi.org/10.1139/f93-075>
- McCormick, S. D. (1995). Hormonal control of gill Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase and chloride cell function. In C. M. Wood & T. J. Shuttleworth (Eds.), *Cellular and molecular approaches to fish ionic regulation* (pp. 285-315). New York: Academic Press.
- McCormick, S. D. (2001). Endocrine control of osmoregulation in teleost fish. *American Zoologist*, 41(4), 781-794. doi:<https://doi.org/10.1093/icb/41.4.781>
- McCormick, S. D. (2013). Smolt physiology and endocrinology. In S. D. McCormick, A. P. Farrell, & C. J. Brauner (Eds.), *Euryhaline fishes* (pp. 199-251). Oxford: Academic Press.
- McCormick, S. D., Björnsson, B. T., Sheridan, M., Eilerlson, C., Carey, J. B., & O'dea, M. (1995). Increased daylength stimulates plasma growth hormone and gill Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Comparative Physiology B*, 165(4), 245-254. doi:<https://doi.org/10.1007/BF00367308>
- McCormick, S. D., Cunjak, R. A., Dempson, B., O'Dea, M. F., & Carey, J. B. (1999). Temperature-related loss of smolt characteristics in Atlantic salmon (*Salmo salar*) in

- the wild. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 56(9), 1649-1667. doi:<https://doi.org/10.1139/f99-099>
- McCormick, S. D., Hansen, L. P., Quinn, T. P., & Saunders, R. L. (1998). Movement, migration, and smolting of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 55(Suppl. 1), 77-92. doi:<https://doi.org/10.1139/d98-011>
- McCormick, S. D., Regish, A. M., & Christensen, A. K. (2009). Distinct freshwater and seawater isoforms of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase in gill chloride cells of Atlantic salmon. *Journal of Experimental Biology*, 212(24), 3994-4001. doi:<https://doi.org/10.1242/jeb.037275>
- McCormick, S. D., Regish, A. M., Christensen, A. K., & Björnsson, B. T. (2013). Differential regulation of sodium–potassium pump isoforms during smolt development and seawater exposure of Atlantic salmon. *Journal of Experimental Biology*, 216(7), 1142-1151. doi:<https://doi.org/10.1242/jeb.080440>
- McCormick, S. D., & Saunders, R. L. (1987). Preparatory physiological adaptations for marine life of salmonids: Osmoregulation, growth, and metabolism. *American Fisheries Society Symposium*, 1, 211-229.
- McCormick, S. D., Saunders, R. L., Henderson, E. B., & Harmon, P. R. (1987). Photoperiod control of parr–smolt transformation in Atlantic salmon (*Salmo salar*): Changes in salinity tolerance, gill Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity, and plasma thyroid hormones. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 44(8), 1462-1468. doi:<https://doi.org/10.1139/f87-175>
- McCormick, S. D., Saunders, R. L., & MacIntyre, A. D. (1989). Mitochondrial enzyme and Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity, and ion regulation during parr-smolt transformation of Atlantic salmon (*Salmon salar*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 6(4), 231-241. doi:<https://doi.org/10.1007/BF01875026>
- McCormick, S. D., Shrimpton, J. M., Moriyama, S., & Björnsson, B. T. (2007). Differential hormonal responses of Atlantic salmon parr and smolt to increased daylength: A possible developmental basis for smolting. *Aquaculture*, 273(2-3), 337-344. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.10.015>
- McMahon, T. E., & Hartman, G. F. (1988). Variation in the degree of silvering of wild coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, smolts migrating seaward from Carnation Creek, British Columbia. *Journal of Fish Biology*, 32(6), 825-833. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1988.tb05426.x>
- Morro, B., Balseiro, P., Albalat, A., Pedrosa, C., Mackenzie, S., Nakamura, S., Shimizu, M., Nilsen, T. O., Sveier, H., Ebbesson, L. O., & Handeland, S. O. (2019). Effects of different photoperiod regimes on the smoltification and seawater adaptation of seawater-farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Insights from Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity and transcription of osmoregulation and growth regulation genes. *Aquaculture*, 507, 282-292. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.039>
- Mylonas, C. C., Sullivan, C. V., & Hinshaw, J. M. (1994). Thyroid hormones in brown trout (*Salmo trutta*) reproduction and early development. *Fish Physiology and Biochemistry*, 13(6), 485-493. doi:<https://doi.org/10.1007/BF00004331>
- Nemeth, E. F., Steffey, M. E., Hammerland, L. G., Hung, B. C. P., Van Wagenen, B. C., DelMar, E. G., & Balandrin, M. F. (1998). Calcimimetics with potent and selective activity on the parathyroid calcium receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(7), 4040-4045. doi:<https://doi.org/10.1073/pnas.95.7.4040>
- Nilsen, T. O., Ebbesson, L. O. E., Madsen, S. S., McCormick, S. D., Andersson, E., Björnsson, B. T., Prunet, P., & Stefansson, S. O. (2007). Differential expression of gill Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$ - and  $\beta$ -subunits, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, 2Cl<sup>-</sup>-cotransporter and CFTR anion

- channel in juvenile anadromous and landlocked Atlantic salmon *Salmo salar*. *Journal of Experimental Biology*, 210(16), 2885-2896. doi:<https://doi.org/10.1242/jeb.002873>
- Noble, C., Jones, H. A. C., Damsgård, B., Flood, M. J., Midling, K. Ø., Rogue, A., Sæther, B., & Cottee, S. Y. (2012). Injuries and deformities in fish: Their potential impacts upon aquacultural production and welfare. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(1), 61-83. doi:<https://doi.org/10.1007/s10695-011-9557-1>
- Noble, C., Nilsson, J., Stien, L. H., Iversen, M. H., Kolarevic, J., & Gismervik, K. (2018). *Velferdsindikatorer for oppdrettslaks: Hvordan vurdere og dokumentere fiskevelferd*. (3 ed.). Tromsø: Nofima.
- Norman, A. W., Okamura, W. H., Bishop, J. E., & Henry, H. L. (2002). Update on biological actions of 1 $\alpha$ , 25 (OH) 2-vitamin D3 (rapid effects) and 24R, 25 (OH) 2-vitamin D3. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 197(1-2), 1-13. doi:[https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(02\)00273-3](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(02)00273-3)
- Norsk Industri. (u.å.). *Veikart for havbruksnæringen*. Retrieved from [https://www.norskindustri.no/siteassets/dokumenter/rapporter-og-brosjyrer/veikart-havbruksnaringen\\_f41\\_web.pdf](https://www.norskindustri.no/siteassets/dokumenter/rapporter-og-brosjyrer/veikart-havbruksnaringen_f41_web.pdf)
- Nærings- og fiskeridepartementet. (2015). *Forutsigbar og miljømessig bærekraftig vekst i norsk lakse- og ørretoppdrett*. (Meld. St. 16 (2014-2015)). Retrieved from [https://www.norskindustri.no/siteassets/dokumenter/rapporter-og-brosjyrer/veikart-havbruksnaringen\\_f41\\_web.pdf](https://www.norskindustri.no/siteassets/dokumenter/rapporter-og-brosjyrer/veikart-havbruksnaringen_f41_web.pdf)
- Olsen, Y. A., Einarsdottir, I. E., & Nilssen, K. J. (1995). Metomidate anaesthesia in Atlantic salmon, *Salmo salar*, prevents plasma cortisol increase during stress. *Aquaculture*, 134(1-2), 155-168. doi:[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)00008-P](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)00008-P)
- Oughterson, S. M., Munoz-Chapuli, R., De Andres, V., Lawson, R., Heath, S., & Davies, D. H. (1995). The effects of calcitonin on serum calcium levels in immature brown trout, *Salmo trutta*. *General and Comparative Endocrinology*, 97(1), 42-48. doi:<https://doi.org/10.1006/gcen.1995.1004>
- Saunders, R. L., & Henderson, E. B. (1970). Influence of photoperiod on smolt development and growth of Atlantic salmon (*Salmo solar*). *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 27(7), 1295-1311. doi:<https://doi.org/10.1139/f70-151>
- Saunders, R. L., & Henderson, E. B. (1978). Changes in gill ATPase activity and smolt status of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 35(12), 1542-1546. doi:<https://doi.org/10.1139/f78-244>
- Sigholt, T., Staurnes, M., Jakobsen, H. J., & Åsgård, T. (1995). Effects of continuous light and short-day photoperiod on smolting, seawater survival and growth in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 130(4), 373-388. doi:[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00349-S](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00349-S)
- Sigholt, T., Åsgård, T., & Staurnes, M. (1998). Timing of parr-smolt transformation in Atlantic salmon (*Salmo salar*): Effects of changes in temperature and photoperiod. *Aquaculture*, 160(1-2), 129-144. doi:[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00220-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00220-2)
- Skilbrei, O. T., Hansen, T., & Stefansson, S. O. (1997). Effects of decreases in photoperiod on growth and bimodality in Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Aquaculture Research*, 28(1), 43-49. doi:<https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1997.00827.x>
- Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (1987). *Introduction to Biostatistics*. New York: Frances & Co.
- Solbakken, V. A., Hansen, T., & Stefansson, S. O. (1994). Effects of photoperiod and temperature on growth and parr-smolt transformation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and subsequent performance in seawater. *Aquaculture*, 121(1-3), 13-27. doi:[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90004-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90004-3)
- Sommerset, I. (2021). Sammendrag. In I. Sommerset, B. Bang Jensen, G. Bornø, A. Haukaas, & E. Brun (Eds.), *Fiskehelse rapporten 2020* (pp. 6-11). Oslo: Veterinærinstituttet.



- Statistisk sentralbyrå. (2017, 13. februar). Frå attåttnæring til milliardindustri. Retrieved from <https://www.ssb.no/jord-skog-jakt-og-fiskeri/artikler-og-publikasjoner/fra-attatnaering-til-milliardindustri>
- Statistisk sentralbyrå. (2020, 29. oktober). Nok et rekordår i oppdrettsnæringen. Retrieved from <https://www.ssb.no/jord-skog-jakt-og-fiskeri/artikler-og-publikasjoner/nok-et-rekordar-i-oppdrettsnaeringen>
- Stefansson, S. O., Berge, Å. I., & Gunnarsson, G. S. (1998). Changes in seawater tolerance and gill Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity during desmoltification in Atlantic salmon kept in freshwater at different temperatures. *Aquaculture*, 168(1-4), 271-277. doi:[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00354-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00354-8)
- Stefansson, S. O., Björnsson, B. T., Ebbesson, L. O. E., & McCormick, S. D. (2008). Smoltification. In R. N. Finn & B. G. Kapoor (Eds.), *Fish larval physiology* (pp. 639-681). Enfield: Science Publishers.
- Stefansson, S. O., Björnsson, B. T., Hansen, T., Haux, C., Taranger, G. L., & Saunders, R. L. (1991). Growth, parr–smolt transformation, and changes in growth hormone of Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared under different photoperiods. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48(11), 2100-2108. doi:<https://doi.org/10.1139/f91-249>
- Stefansson, S. O., Bæverfjord, G., Handeland, S. O., Hansen, T., Nygård, S., Rosseland, B. O., Rosten, T., Toften, H., & Havardsson, B. (2005). *Fiskevelferdsmessig vurdering av produksjon av 0-års smolt*. (Sluttrapport 19.05.05). Retrieved from <https://vkm.no/download/18.d44969415d027c43cf212ac/1499264471464/c22a3c08fe.pdf>
- Stefansson, S. O., Nilsen, T. O., Ebbesson, L. O. E., Wargelius, A., Madsen, S. S., Björnsson, B. T., & McCormick, S. D. (2007). Molecular mechanisms of continuous light inhibition of Atlantic salmon parr–smolt transformation. *Aquaculture*, 273(2-3), 235-245. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.10.005>
- Stien, L. H., Bracke, M. B. M., Folkedal, O., Nilsson, J., Oppedal, F., Torgersen, T., Kittilsen, S., Midtlyng, P. J., Vindas, M. A., Øverli, Ø., & Kristiansen, T. S. (2013). Salmon Welfare Index Model (SWIM 1.0): A semantic model for overall welfare assessment of caged Atlantic salmon: Review of the selected welfare indicators and model presentation. *Reviews in Aquaculture*, 5(1), 33-57. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2012.01083.x>
- Strand, J. E. T., Hazlerigg, D., & Jørgensen, E. H. (2018). Photoperiod revisited: Is there a critical day length for triggering a complete parr–smolt transformation in Atlantic salmon *Salmo salar*? *Journal of Fish Biology*, 93(3), 440-448. doi:<https://doi.org/10.1111/jfb.13760>
- Striberny, A., Lauritzen, D. E., Fuentes, J., Campinho, M. A., Gaetano, P., Duarte, V., Hazlerigg, D. G., & Jørgensen, E. H. (2021). More than one way to smoltify a salmon? Effects of dietary and light treatment on smolt development and seawater growth performance in Atlantic salmon. *Aquaculture*, 532, 736044. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736044>
- Suzuki, T., Suzuki, N., Srivastava, A. S., & Kurokawa, T. (2000). Identification of cDNAs encoding two subtypes of vitamin D receptor in flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 270(1), 40-45. doi:<https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.2378>
- Takei, Y., & Loretz, C. A. (2006). Endocrinology. In D. H. Evans & J. B. Caliborne (Eds.), *The physiology of fishes* (3. ed., pp. 271-318). Boca Raton: Caliborne.
- Takle, H. R., Ytteborg, E., Nielsen, K. V., Karlsen, C. R., Nilsen, H. K., Svein, L., Colquhoun, D. J., Olsen, A. B., Sørum, H., & Nilsen, A. (2015). *Sårproblematikk og*

- hudhelse i laks-og regnbueørrettoppdrett*. (5/2015). Retrieved from file:///Users/inemeland/Downloads/Rapport+05-2015.pdf
- Thorpe, J. E., Morgan, R. I. G., Pretswell, D., & Higgins, P. J. (1988). Movement rhythms in juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Biology*, 33(6), 931-940. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1988.tb05542.x>
- Thorstad, E. B., Whoriskey, F., Rikardsen, A. H., & Aarestrup, K. (2011). Aquatic nomads: The life and migrations of the Atlantic salmon. In Ø. Aas, A. Klemetsen, S. Einum, & J. Skurdal (Eds.), *Atlantic salmon ecology* (pp. 1-23). Chichester: Wiley-Blackwell.
- Thrush, M. A., Duncan, N. J., & Bromage, N. R. (1994). The use of photoperiod in the production of out-of-season Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts. *Aquaculture*, 121(1-3), 29-44. doi:[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90005-1](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90005-1)
- Timmerhaus, G., Lazado, C. C., Cabillion, N. A. R., Reiten, B. K. M., & Johansen, H. (2021). The optimum velocity for Atlantic salmon post-smolts in RAS is a compromise between muscle growth and fish welfare. *Aquaculture*, 532, 736076. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736076>
- Turnbull, J. F., Richards, R. H., & Robertson, D. A. (1996). Gross, histological and scanning electron microscopic appearance of dorsal fin rot in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. *Journal of Fish Diseases*, 19(6), 415-427. doi:<https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.1996.d01-93.x>
- van Rijn, C. A., Jones, P. L., Schultz, A. G., Evans, B. S., McCormick, S. D., & Afonso, L. O. B. (2020). Atlantic salmon (*Salmo salar*) exposed to different preparatory photoperiods during smoltification show varying responses in gill Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, salinity-specific mRNA transcription and ionocyte differentiation. *Aquaculture*, 529, 735744. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735744>
- Weatherley, A. H., & Gill, H. S. (1987). *The biology of fish growth*. London: Academic Press.
- Waagbø, R., Graff, I. E., & Hamre, K. (2001). Vitamener. In R. Waagbø, M. Espe, K. Hamre, & Ø. Lie (Eds.), *Fiskeernæring* (pp. 93-123). Bergen: Kystnæringen Forlag & Bokklubb.
- Zaugg, W. S., & McLain, L. R. (1970). Adenosinetriphosphatase activity in gills of salmonids: Seasonal variations and salt water influence in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 35(3), 587-596. doi:[https://doi.org/10.1016/0010-406X\(70\)90975-8](https://doi.org/10.1016/0010-406X(70)90975-8)
- Zaugg, W. S., & Wagner, H. H. (1973). Gill ATPase activity related to parr-smolt transformation and migration in steelhead trout (*Salmo gairdneri*): Influence of photoperiod and temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 45(4), 955-965. doi:[https://doi.org/10.1016/0305-0491\(73\)90156-9](https://doi.org/10.1016/0305-0491(73)90156-9)
- Zydlewski, J., Zydlewski, G., & Danner, G. R. (2010). Descaling injury impairs the osmoregulatory ability of Atlantic salmon smolts entering seawater. *Transactions of the American Fisheries Society*, 139(1), 129-136. doi:<https://doi.org/10.1577/T09-054.1>
- Ærø, C. R. (2018). *Kontinuerlig lysstimuli og sjøvannsbruk i intensiv smoltproduksjon: smoltifiseringsutvikling hos atlantisk laks (Salmo salar)*. (Masteravhandling, Nord universitet). Retrieved from <https://nordopen.nord.no/nord-xmlui/bitstream/handle/11250/2567292/carlruben.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

