

Endre Antonsen og Thor Aslak Haanes Waagan

Plasmakortisol og risttap ved intern flytting av laksesmolt i to settefiskanlegg på Nord-Vestlandet

Bacheloroppgave i Biomarin Innovasjon

Veileder: Stig Atle Tuene

Mai 2022

Endre Antonsen og Thor Aslak Haanes Waagan

Plasmakortisol og risttap ved intern flytting av laksesmolt i to settefiskanlegg på Nord-Vestlandet

Bacheloroppgave i Biomarin Innovasjon

Veileder: Stig Atle Tuene

Mai 2022

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet

Fakultet for naturvitenskap

Institutt for biologiske fag Ålesund



Kunnskap for en bedre verden

Forord

Denne oppgaven er den avsluttende delen av vår bachelorgrad i biomarin innovasjon ved NTNU i Ålesund, Institutt for biologiske fag, Fakultet for naturvitenskap. Oppgaven omfatter 15 studiepoeng og har i sin helhet blitt gjennomført våsemesteret 2022.

Bakgrunnen for valg av tema i oppgaven var vår felles interesse for akvakulturnæringen og et ønske om å fordype oss i settefiskproduksjon. I løpet av studietiden i Ålesund, og gjennom arbeidserfaring fra havbruk, har vi til nå hovedsakelig jobbet med matfiskproduksjon. For å få en mer helhetlig kunnskap for produksjonssyklusen til oppdrettslaks ønsket vi å jobbe med settefisknæringen som tema.

Intern flytting i settefiskanlegg er et tema vi ser det er viktig å fremskaffe mer kunnskap om. Problemstillingen ble utarbeidet i samarbeid med MMC First Process og vi har hatt som mål å se på effekter knyttet til intern flytting av laks ved settefiskanlegg. Denne oppgaven vil belyse konsekvenser for fiskevelferd ved ulike metoder for flytting. Resultater fra forsøkene i denne oppgaven er tenkt brukt til sammenligning i arbeid med flytting av smolt ved bruk av ny pumpeteknologi i regi av MMC First Process.

Gjennomføringen av oppgaven har blitt gjort etter beste evne, og vi har lært mye underveis i prosessen. Mest av alt har vi erfart at faktorer vi først ikke hadde regnet med, spiller en stor rolle for resultater og gjennomføring. Covid-19, ulike miljøforhold for fisken (herunder spesielt ulik salinitet), kortere tidsplan enn først antatt og omfanget av prøvetagning og dataanalyser er noen av faktorene som spilte inn. Dette har ført til en økt forståelse av viktigheten ved god forsøksplanlegging og realistiske forventninger til gjennomføring av prosjekter.

En stor takk rettes til MMC First Process ved Eivind Vinje og Marko Polter. Videre vil vi takke de to lokalitetene som har gitt oss tilgang til deres fasiliteter og forsøksfisk. Takk til vår veileder Stig Atle Tuene, ved NTNU i Ålesund, for god oppfølging av oppgaven. Jingwen Ding har vært til svært god hjelp med blodprøvetaking og kortisolanalyse. Takk til Snorre Bakke og Lars Christian Gansel for gode diskusjoner, tips og motivasjon. Vi vil også takke andre personer tilknyttet Institutt for biologiske fag ved NTNU i Ålesund.

Sammendrag

Fiskevelferd er i fokus både i markedet og i produksjonen av oppdrettslaks, likevel dør store mengder fisk i norske settefiskanlegg. I 2021 var dødfisktallene høyere enn noen gang. Dødeligheten skyldes blant annet skader, dårlige miljøforhold og dårlig fysiologisk tilpasning.

I denne oppgaven ble velferdsindikatorer benyttet for å undersøke hvordan intern flytting i settefiskanlegg påvirker atlantisk laksesmolt (*Salmo salar*). Transportmetodene undersøkt i dette forsøket var trenging ved redusert vannstand i kombinasjon med håving (Lokalitet A) og vakuumpumping gjennom slanger (Lokalitet B). Grupper på 10 fisk med gjennomsnittsvekt på rundt 65 g ble tatt prøver av før, og ved flere tidspunkt etter flytting, ved hjelp av trenging, pumping og håving. Fisken ble flyttet fra ferskvann til 34 ‰ og 5 ‰ saltvann.

Visuell undersøkelse førte ikke til funn av forandringer i andre velferdsindikatorer enn risttap (skjelltap) og det ble ikke funnet blod i bukhulen. Resultatene antydte at risttapedet var størst ved bruk av håv som metode for flytting. De gjennomsnittlige plasmakortisolnivåene før flytting var $39,85 \pm 28,5$ ng/ml og $4,97 \pm 3,43$ ng/ml for henholdsvis håving og pumping. Toppnivåene var $170,24 \pm 7,18$ ng/ml og $57,11 \pm 23,79$ ng/ml. Endringene i plasmakortisolnivåene viser en forventet topp etter flytting og deretter en synkende kurve frem mot tilnærmede hvilenivåer etter 6 timer ved begge lokaliteter.

Det ble registrert ett visst risttap ved begge transportmetoder og vi ser en økning etter flytting. Laks som gjennomgår smoltifiseringsprosess, har løsere skjell og det kan derfor stilles spørsmål ved om bruken av håv i denne perioden er egnet med tanke på fiskevelferd og smoltkvalitet. Et forhøyet stressnivå kan resultere i redusert appetitt, nedsatt vekst og gi økt dødelighet. Resultatene for plasmakortisol i denne oppgaven kan tyde på at hvilenivåer ble nådd 6 timer etter flytting, langt tidligere enn forventede resultater beskrevet i forskningen som foreligger.

Abstract

Fish welfare is in focus both in the market and in the production of farmed salmon, yet large quantities of fish die in Norwegian smolt production sites. In 2021, the number of dead fish was higher than ever. The mortality is caused by injuries, poor environmental conditions, and poor physiological adaptation.

In this thesis, welfare indicators were used to investigate how internal fish transportation in smolt production sites affects Atlantic salmon smolts (*Salmo salar*). The transport methods investigated in this experiment were crowding by reducing water levels in combination with hand netting (Site A) and vacuum pumping through pipes (Site B). Groups of 10 fish with an average weight of approximately 65 g were sampled before, and at several times after relocation by means of crowding, vacuum pumping, and hand netting. The fish were moved from fresh water to 34 ‰ and 5 ‰ salt water.

Visual examination did not lead to findings of changes in other welfare indicators than loss of shells. No blood was found in the abdominal cavity. Results indicated that the loss of shells was greater when using hand netting as a method of relocation than when using a vacuum pump. The average pre-relocation plasma cortisol levels were 39.85 ± 28.5 ng/ml and 4.97 ± 3.43 ng/ml for hand netting and pumping. Peak levels were 170.24 ± 7.18 ng/ml and 57.11 ± 23.79 ng/ml. The changes in cortisol levels show an expected peak after moving and then a descending curve towards approximate resting levels after 6 hours in both sites.

A loss of shells was registered at both sites and a certain increase in shell loss was seen after transport. Salmon that undergo the smoltification process have looser shells and questions can therefore be asked about the use of hand nets during this period of time. We suggest that hand netting during smoltification is less suitable for maintaining good fish welfare and smolt quality. An elevated level of stress can lead to decreased appetite, decreased growth and increased mortality. The results in this study, for plasma cortisol, may indicate that resting levels were reached 6 hours after relocation, much earlier than described in the available literature.

Innhold

Forord.....	1
Sammendrag.....	2
Abstract	3
1. Innledning.....	5
1.1. Fiskevelferd	5
1.2. Velferdsindikatorer.....	6
1.3. Stress hos laks	9
1.4. Intern transport i settefiskanlegg	10
1.5. Problemstilling	11
2. Material og metode.....	12
2.1. Forsøksfisk	12
2.2. Transportmetode og miljøforhold.....	12
2.3. Forsøksoppsett.....	13
2.4. Labarbeid og analyse.....	16
3. Resultat.....	18
3.1. Fysiske skader	18
3.2. Plasmakortisol	20
4. Diskusjon.....	22
Kildeliste	27
Vedlegg	30
Vedlegg 1	30

1. Innledning

Oppdrett av laks er viktig for Norge og næringen har vokst mye de siste årene. Trass i en nedgang på 4% i 2020, ble det solgt over 1,3 millioner tonn slaktet laks til en verdi av 64,6 milliarder kroner (Fiskeridirektoratet, 2021b). Produksjon av høykvalitets, slakteklar laks krever høykvalitets-smolt fra settefisknæringen. Næringen solgte rogn, yngel og smolt for mer enn 7 milliarder kroner i 2020 (Fiskeridirektoratet, 2021a). Regjeringen har et uttalt mål om å sikre bærekraftig vekst i næringen, og for å nå dette målet må man nødvendigvis øke produksjonen av settefisk (Fiskeridirektoratet, 2015).

Produksjon av smolt er kostbart. Om fisken dør før levering, fører dette til økonomiske tap både på grunn av urealisert avkastning og tap av investerte midler. Mer enn 33 millioner laks døde i norsk settefiskproduksjon i 2021. Dette er den høyeste dødeligheten noen gang målt i Norge. Dødeligheten skyldes blant annet skader, dårlige miljøforhold og dårlig fysiologisk tilpasning (Wiik-nielsen *et al.*, 2022). Registrering av dødfisk er lovpålagt og standardisert, men årsakene som fører til problemene er ikke (Persson *et al.*, 2022). En reduksjon i dødelighet i settefisknæringen kan føre til store besparelser. Bedre økonomi vil gi en mer effektiv næring, og bedre fiskevelferd vil gi hele oppdrettsbransjen ett bedre omdømme og et signal om at næringen tilstreber en bærekraftig og ansvarsbevisst produksjon. Det at enorme mengder individer dør av skader, sykdom og feil håndtering, er en realitet slik situasjonen er i dag. For å følge den bærekraftige utviklingen i global matvareproduksjon og kravene til forbrukerne, må næringen ta grep for å øke fiskevelferden og redusere dødeligheten.

1.1. Fiskevelferd

«God fiskevelferd er en forutsetning for god fiskehelse, lav dødelighet og god kvalitet» (Mattilsynet, 2022).

Oppretteren har et ønske om maksimal lønnsomhet og for å oppnå dette, kreves god fiskevelferd. Fisk med uoppfylte velferdsbehov, vil kunne mistriives i miljøet og dette vil igjen medføre store konsekvenser. Om fisken utsettes for ubehag, stress, sykdommer eller skader, kan dette resultere i redusert vekst og appetitt, gi dårligere kvalitet og økt dødelighet (Noble *et al.*, 2018). Alt dette vil være med på å redusere lønnsomheten, og derfor vil god fiskevelferd være noe oppretteren prøver å oppnå. I tillegg til fordelene ved å opprettholde god fiskevelferd, finnes det lover og forskrifter som skal beskytte dyrene. Dyrevelferdsloven har som formål å

fremme god dyrevelferd og respekt for dyr. Virkeområdet til denne loven omfatter forhold som påvirker velferd hos eller respekt for pattedyr, krypdyr, fisk, amfibier, fugler, tifotkrepser, honningbier og blekksprut. Loven gjelder tilsvarende for utviklingsstadier av nevnte dyr dersom sanseapparatet tilsvarer utviklingsnivået hos levende dyr (Lovdata, 2009).

Dyrevelferd er et tema også forbrukerne er opptatt av (Noble *et al.*, 2012). Forbrukerne har de siste årene vist en økt interesse for opphav og informasjon, spesielt knyttet til produksjonsforhold og dyrevelferd. Det er forskjell på forbrukerne, men tendensen er at det blir mer og mer etterspørsel etter kjøttvarer som kommer fra dyr som lever under gode produksjonsvilkår (Cembalo *et al.*, 2016).

Det er flere syn på hva god fiskevelferd omfatter. Et syn er biologisk funksjon, altså at individet er sunt, har god vekst og at det generelt har ytelser som blir oppfattet som god fiskevelferd. Man kan også se på fiskevelferd som retten hvert individ har til et naturlig liv. Det vil si at individet har den aller høyeste formen for velferdsnivå om det lever i sitt naturlige miljø, at adferden følger det artsspesifikke adferdsmønsteret, og at individet har en helt naturlig ytelse og vekst. Den tredje måten å se fiskevelferd på, er at man må ta i betraktning at fisk har følelser og affektive tilstander. Dermed vil man oppnå god fiskevelferd om individet utsettes for positive opplevelser til forskjell fra negative, slik som frykt og smerte (Duncan, 2005). Alle disse ulike synene på fiskevelferd gjør det derfor vanskelig å finne en begrepsmessig klarhet for hva det faktisk er. Ved å ta utgangspunkt i de viktigste og best dokumenterte faktorene (levevilkår, fysiologiske funksjoner og følelser), har man etablert en relativt god metode for å dokumentere fiskevelferd gjennom velferdsindikatorer (Noble *et al.*, 2018)

1.2. Velferdsindikatorer

For å kunne finne ut hvordan fisken har det, benytter man seg av velferdsindikatorer (VI-er). Disse VI-ene forteller noe om velferdsbehovene fisken enten får eller ikke får oppfylt. Man kan dele VI-ene inn i direkte og indirekte indikatorer. De direkte er fiskens egenskaper og adferd, mens de indirekte omfatter miljøet fisken befinner seg i og de ulike ressursene den har tilgjengelig (Duncan, 2005). Derfor kan man se på VI-ene som dyrebaserte og miljøbaserte. Dyrebaserte indikatorer er mer direkte knyttet opp mot den fysiske helsen til dyrene enn hva de miljøbaserte VI-ene er. De er ikke synlige før problemet har oppstått. De miljøbaserte kan indikere et problem før man ser synlige effekter. Noen av de mest brukte VI-ene har man en egen gruppe for, denne gruppen kalles for operative velferdsindikatorer, eller OVI-er. Disse blir ofte brukt i den daglige driften av anlegget. LABVI-er er velferdsindikatorer som krever

laboratorium for å kunne måles (Noble *et al.*, 2018). Kortisolnivå utskilt ved primær stressrespons, er et eksempel på en LABVI.

1.2.1. Miljøbaserte velferdsindikatorer

Miljøbaserte velferdsindikatorer er indirekte, de bygger ikke på tilstanden til fisken, men på miljøet fisken befinner seg i. Miljøbaserte VI-er er svært viktige indikatorer, da en endring i miljøet kan føre til enorme konsekvenser for velferd. PH, oksygenmetning, temperatur og salinitet er alle eksempler på miljøbaserte VI-er, hvor alle bør kontrolleres for å kunne forutse mulige fremtidige velferdsproblemer populasjonen kan få (Alsos, 2020).

1.2.2. Dyrebaserte velferdsindikatorer

Dyrebaserte VI-er kan man se på som individ- og gruppebaserte. Mange individbaserte VI-er kan være aktuelle å benytte seg av for å skaffe seg et bilde rundt alvorligheten av et velfersproblem hos hele populasjonen. Disse VI-ene kan brukes som en kvalitativ indikasjon på, f.eks. gjelleproblemer. Den kanskje aller mest brukte velferdsindikatoren, som er dødelighet, belyser raskt om man har et velferdsproblem. Dette er en gruppebasert VI, men det kan være aktuelt med individbaserte VI-er for å avdekke årsaken til problemet (Noble *et al.*, 2018).

1.2.3. Individbaserte velferdsindikatorer

Man har flere forskjellige individbaserte VI-er det kan være aktuelt å bruke for å avdekke problemer i en populasjon, og de som blir benyttet hyppigst er: Avmagring, hudblødninger, sår, risttap (skjelltap), øyebldning/øyeskade, utstående øye, gjellelokkskade, snuteskade, ryggraddeformiteter, lakselusinfeksjon, overkjevedeformiteter, underkjevedeformiteter, helbredet finneskade og aktiv finneskade. Dette er operative velferdsindikatorer (OVI) (Noble *et al.*, 2018).

Om hensikten med måling av OVI'ene er å kontrollere skånsom håndtering, er ikke alle like relevante å benytte seg av. Da er det mest hensiktsmessig å se på de som kan gi en indikasjon på skader eller andre konsekvenser i sammenheng med håndtering.

Finneskader og finnestatus er en av OVI'ene det kan være aktuelt å se på. Da skiller man gjerne mellom aktiv og helbredet finneskade. Aktiv finneskade er en mye større trussel for velferden, da infeksjoner og sykdommer lettere trenger inn i åpne sår (Andrews *et al.*, 2015). Det skilles

mellom 3 typer finneskader; splitting, erosjon og fortykning. Alle nevnte kan føre til blødninger og skader i finnevevet (Noble *et al.*, 2012).

En annen VI brukt for å kontrollere velferden ved håndtering er risttap. Skjellene på fisken og dens slimlag fungerer som en barriere mot infeksjoner. Risttap kan gjøre at infeksjoner får en enklere vei inn i fisken. I tillegg til fare for infeksjoner fører også risttap til smerte. Det kan føre til redusert evne til osmoseregulering og kan gi sår eller byller. Snuteskader, hudblødninger og andre sår kan også forekomme ved håndtering. Snuteskader og sår vil også kunne føre til infeksjoner. Hudblødninger, gjerne identifisert som rødbuk, er en indikasjon på at håndteringen kan ha vært for hard og at man har presset fisken for mye.

Øyeskader på fisk er vanlig ved håndtering, da øynenes posisjon på kroppen er utsatt, og stikker litt ut i forhold til resten av hodet. Øynene kan både bli skadet gjennom uttørking og ved mekaniske skader f.eks. ved håving, pumping og sortering. Øyeskader kan videre forårsake smerter, infeksjoner og tap av syn (Pettersen *et al.*, 2014).

1.2.4. Gruppebaserte velferdsindikatorer

Man har flere ulike gruppebaserte VI-er. Adferd, vekst, appetitt og dødelighet er alle gruppebaserte og kan gi uttrykk for populasjonens helsetilstand. Adferd kan være en av de aller nyttigste VI-ene. Det er en av de indikatorene som blir benyttet hyppigst i dagens oppdrettsanlegg. Dette blir gjort ved hjelp av kamera, som de fleste anleggene har i hver enkelt merd/kar. I mindre kar kan man observere adferd fra overflaten. Dette gjør at man kan overvåke interaksjoner mellom individer, svømmeaktivitet, appetitt, posisjonering i vannmassene, gjellefrekvens osv. (Ashley, 2007).

Både vekst og vekstrate er en godt kjent og brukt VI. Denne VI-en står i sammenheng med ernærings- og fôringsmessige velferdsbehov. Om man ikke passer disse behovene, vil man i verste fall se en redusert vekst og vekstrate. Vekst varierer i forhold til hvilken størrelse det er på fisken, og hvilken fase i livet den er (yngel, parr, smolt, voksen/matfisk). Den kan påvirkes av flere forhold som kan gi en indikasjon på et eller flere velferdsbehov som ikke er oppfylt, f.eks. sykdommer, vannkvalitet og appetitt (Adams *et al.*, 2000).

Behovet for fôr er et selvsagt velferdskrav hos oppdrettsfisk. Hvor mye fôr som blir fôret kan variere fra dag til dag, og om fisken velger å spise ved disse tidspunktet kan påvirkes av flere atferdsmessige og fysiologiske faktorer. Stress er en slik faktor som kan påvirke appetitten betydelig hos laksefisk, for eksempel etter operasjoner som avlusning, flytting eller sortering.

Appetitt kan derfor brukes som en indikator for å avdekke et problem for populasjonen (Jobling *et al.*, 2012).

1.3. Stress hos laks

1.3.1. Stressrespons

Stress kan påvirke fiskens homeostase og smoltifiseringsprosessen til laksefisk. Videre kan stress påvirke smoltens evne til å takle utfordringer i miljøet (Schreck, 1982).

Stressrespons kan brukes som en VI, da dette er en naturlig reaksjon dyr i naturen har, når den blir utsatt for en stressor (Cao, Tveten and Stene, 2017). Stress blir utløst av en eller flere stressorer. Stressorer er hendelser, forhold eller påvirkninger som resulterer i økt stress for individet. Stressorer kan deles inn i miljøstressorer, fysiske stressorer og biologiske stressorer. Miljøstressorer er forhold som vannkvalitet, oksygeninnvå, temperatur og salinitet. Fysiske stressorer omfatter blant annet håndtering, transport og pumping. Biologiske stressorer omhandler biologisk samspill med blant annet predatorer og hierarkiske forhold innad i en populasjon. Videre kan også bakterier og mikroorganismer som fører til ubehag og sykdom for fisken klassifiseres som biologiske stressorer (Iwama, 2006).

Stress blir ofte delt inn i primær stressrespons, sekundær stressrespons og tertiær stressrespons. Primær stressrespons er utløsning av stresshormon. Stresshormon blir sendt rett ut i blodet ved hjelp av endokrine kjertler grunnet samspillet mellom disse kjertlene og nervesystemet. Sekundær stressrespons er de fysiologiske forandringene som oppstår etter stress. Dette er eksempelvis økning i antall røde blodceller, økt glukosenivå i blodet og redusert appetitt. Tertiær stressrespons er forandringer som nedsatt vekst, nedsatt reproduksjonsevne og økt dødelighet (Ellis *et al.*, 2011).

1.3.2. Kortisol

Kortisol er et hormon dyr skiller ut etter å ha blitt utsatt for stress. Kortisol blir utskilt i den primære stressresponsen og forandrer dyrets oppførsel og hjernefunksjon for å gjøre fisken mer rustet til å takle utfordringer. Kortisol kan brukes til å lese hvordan et dyr reagerer på omgivelsene og miljøet rundt seg. Upåvirkede og ustressede fisk har varierende kortisolnivå fra årstid til årstid og noen ganger fra dag til dag. Det er derfor ikke relevant å bruke engangsmålinger som en indikator på hvor stressende en hendelse har vært for fisken. Derfor må man se på økning i kortisol fra før til etter en hendelse ved bruk av hormonet som en velferdsindikator (Ellis *et al.*, 2011).

Laksefisk reagerer sterkere på stress i smoltifiseringsperioden. Resultater tyder på at hvilenivåer og maksnivåer for kortisol er høyere i denne perioden sammenlignet med perioder etter smoltifisering (Barton *et al.*, 1985). Smolt har ofte høyere hvilenivå og toppnivå for plasmakortisol enn parr. Tiden det tar før smolt når tilbake til hvilenivåer er også forventet å være lenger enn tiden det tar for parr. Økningen fra hvilenivåer til toppnivåer er også forventet å være større hos smolt enn for parr (Carey and McCormick, 1998). Ved kortisolmåling av smolt må man se resultatene i lys av økte kortisolnivå i perioden smolten naturlig vil starte forflytning fra elv til sjø (Nomura *et al.*, 2009). Unormalt høye kortisolnivå over tid kan føre til lettere mottagelighet for sykdommer og en dårligere reproduksjonsevne (Carey and McCormick, 1998).

1.4. Intern transport i settefiskanlegg

Transport av fisk internt i settefiskanlegg foregår gjerne ved hjelp av håv og/eller pumper koblet til et rørsystem. Hvilken metode som er mest skånsom for fisken er diskutert, men pumping av fisk er ofte sett på som en mer skånsom metode enn håving (Conte, 2004). Felles for både pumping og håving er bruken av trenging for å føre fisken til pumpen eller for å fange fisken med håv. Dette gjøres ved å tappe ned vannet i oppdrettskaret, som fører til høyere tetthet av fisk, eller ved å mekanisk redusere volumet i karet (skyveskott eller andre metoder). Trenging ved reduksjon av vann er sett på som den største stressoren for laks i forbindelse med transport (Espmark *et al.*, 2015)

1.4.1. Håving som metode for flytting

Håv er et redskap som i dag brukes aktivt i flere deler av produksjonssyklusen i oppdrett av laks. Det har lenge vært kjent at håv og spesielt tørrhåving er en stressor for fisk (Hjeltnes *et al.*, 2008). Munnskader, kjeveskader, klemskader, øyeskader, indre skader og finneskader kan forekomme ved bruk av håv (Noble *et al.*, 2018). Studier viser at laksefisk blir stresset av håndtering med håv, og plasmakortisol-nivået i blodet stiger og forblir høyt lenge etter håndtering (Peter, Paulencu and Barton, 1980). Ved håving blir fisken eksponert for luft i en kort periode. Effektene av lufteksponering er omdiskuterte, men det er kjent at lufteksponering kan føre til økt stress (Fiskeridirektoratet, 2015). I forskning gjort på sportsfiske og «catch and release» av regnbueørret, viser resultater at et kort opphold i luft vil kunne påvirke overlevelsessevnen til fisken negativt (Ferguson and Tufts, 1992).

1.4.2. Pumping som metode for flytting

Pumping av fisk forekommer i flere produksjonsledd. Helseeffektene av pumping er diskuterte, men økt stress er en felles oppfatning (Espmark *et al.*, 2015; Midling, Nilsson and Humborstad, 2016). Trenging blir brukt for å føre fisken til bunnen av karet og inn i pumpesystemet. Trenging blir ofte gjort ved å tappe vann ut av karet for å øke tettheten av fisk. Pumping og trenging kan i kombinasjon påvirke osmoseregulering, redusere vekst, øke dødelighet og føre til dårligere skinnhelse. Det blir imidlertid påpekt at fisken har en evne til å tilpasse seg håndtering og nå hvilenivåer for stress i tiden etter en transportoperasjon (Espmark *et al.*, 2015). Skader som kan forekomme under pumping er blant annet: Øyeskader, munn og kjeveskader, hudskader, gjelleskader, finneskader og snuteskader (Noble *et al.*, 2018).

Pumper som typisk blir brukt i settefiskanlegg er vakuumpumper og sentrifugalpumper. Ved pumping med sentrifugalpumper er det sett høyere dødelighet hos laksefisk når fisken er stor enn når den er liten. Videre kan pumpehastighet og pumpefrekvens ha effekter på hvor skånsom pumpingen er for fisken. Ofte er det mer skånsomt med høy frekvens og lav hastighet (Thompson *et al.*, 2011). Vakuumpumper benytter undertrykk for å transportere fisken. Under transport blir fisken fraktet i rør med undertrykk, noe som kan påvirke svømmeblæren (Noble *et al.*, 2018). Om vakuumkanmeret til pumpesystemet står for høyt, altså at løftehøyden er for høy, kan dette føre til skader som indre blødninger og utstående øyne grunnet for stort undertrykk (Branson, 2008). Vakuumpumper opererer gjerne ujevnt og kapasiteten er ofte lavere enn andre pumper (Xiao *et al.*, 2015).

Denne oppgaven hadde som hovedmål å skaffe kunnskap om hvilke effekter ulike metoder for intern transport i settefiskanlegg hadde på smolt. Det ble undersøkt om fisken fikk forhøyede kortisolnivå og om fisken fikk ytre og indre skader som følge av håndteringen. Kunnskapen og resultatene som ble innhentet gjennom litteratursøk og forsøk, skulle kunne føre til videre interesse for temaet, og gi en indikasjon på hvordan de spesifikke transportmetodene undersøkt i denne oppgaven hadde på laksesmolt.

1.5. Problemstilling

«Hvordan påvirkes laksesmolt av håving og vakuumpumping i forbindelse med intern transport i settefiskanlegg?»

2. Material og metode

Det ble gjennomført to forsøk i sammenheng med denne oppgaven. Forsøkene ble gjort henholdsvis 22.02.2022 (forsøk 1) og 07.04.2022 (forsøk 2). Forsøkene og prøvetakingene ble gjennomført i forbindelse med planlagte operasjoner i henhold til normal drift av settefiskanleggene.

2.1. Forsøksfisk

I forsøket ble atlantisk laksesmolt (*Salmo salar*) undersøkt. Det ble tatt ut 40 smolt ved hver lokalitet (lokalitet A og B). Startkarene ved begge lokalitetene var fylt med ferskvann. Fisken i lokalitet A hadde en gjennomsnittsvekt på $63,15 \pm 10,89$ g og en gjennomsnittslengde på $18,8475\text{cm} \pm 1,0286$ cm. Fisken i lokalitet B, hadde en gjennomsnittsvekt på $65,775 \pm 9,9163$ g og en gjennomsnittslengde på $19,21 \pm 0,8751$ cm. Gruppene med fisk ved begge lokalitetene var sultet på forhånd. Det hadde blitt gjennomført vaksinerings av fisken ved begge lokalitetene i kort tid før forsøkene.

2.2. Transportmetode og miljøforhold

2.2.1. Lokalitet A

Ved lokalitet A ble det benyttet håv for å løfte fisken over i PE-rør. Det ble brukt en standard håndholdt tørrhåv med knuteløst notlin. I plastrøret fløt det en vannstrøm skapt av en vannslange koblet til den ene enden av røret. Fisken fulgte vannstrømmen nedover og ut i sluttkaret. Fra sluttkaret ble fisken fanget med håv etter 1,5, 3 og 6 timer. Temperaturen i startkaret var $8,2^{\circ}\text{C}$ og temperaturen i sluttkaret var $6,5^{\circ}\text{C}$. Saliniteten i startkaret var 0 ‰ og i sluttkaret var saliniteten 34 ‰. Startkar og sluttkar ble automatisk oksygenert underveis i prosessen.

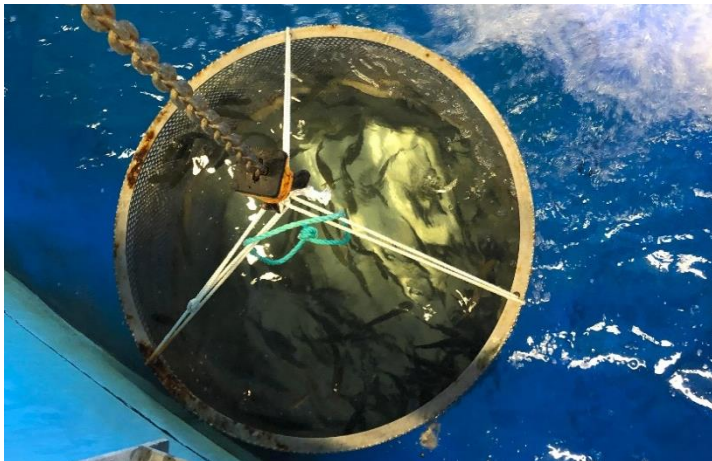
2.2.2. Lokalitet B

Ved lokalitet B ble fisken pumpet ut fra bunnen av oppdrettskaret ved hjelp av Iras PV-150 DLF Vakuumpumpe (Fig.1). Vakuumpumpen stod plassert 2,5 meter over bunnen av oppdrettskaret. Da fisken ble pumpet ut i sluttkaret ble et utvalg fisk pumpet direkte over i et sylindrisk rustfritt bur (80 centimeter i diameter, 1 meter dypt) plassert i overflaten, adskilt fra resten av karet (Fig.2). Disse ble så håvet ut av buret etter 1,5, 3 og 6 timer. Temperaturen i

startkaret og sluttkaret var 6°C. Saliniteten i startkaret var 0‰ og i sluttkaret var det 5‰. Startkar og sluttkar ble automatisk oksygenert underveis i prosessen.



Figur 1. Vakuumpumpe brukt for flytting ved lokalitet B.



Figur 2. Buret som forsøksfisken etter flytting ble plassert i. Dette ble benyttet for å sikre at fisken som ble undersøkt kom fra samme kar og at den kom ved likt tidspunkt.

2.3. Forsøksoppsett

Forsøk 1 ble gjort ved lokalitet A og forsøk 2 ble gjort ved lokalitet B. I begge forsøkene skulle lokalitetene flytte smolt fra flere oppdrettskar (heretter kalt startkar) på land til et annet kar på

land (heretter kalt sluttkar). Ved begge lokalitetene ble flere startkar med fisk fra samme generasjon flyttet over i et større kar, det ble kun tatt kontrollprøver av ett startkar ved hver lokalitet. Alle aktuelle oppdrettskar ved begge lokaliteter stod under tak og var eksponert for kunstig lys. Sluttkaret ved lokalitet B hadde lystett PVC-duk delvis over karet. Flyttingen ble gjort ved å senke vannstanden i startkaret (Fig.3). Fisken ble så håvet over i et rør som førte fisken til sluttkaret (lokalitet A) og ved å vakuumpumpe fisken over i sluttkaret (lokalitet B). Ved begge lokalitetene ble det tatt kontrollprøver av 10 fisk før flytting. Det ble så tatt prøver av 10 fisk 1,5 time etter flytting, 3 timer etter flytting og 6 timer etter flytting.



Figur 3. *Trenging ved lokalitet B: Vannstanden i startkaret er senket for å øke tettheten av fisk, for deretter å pumpe fisken til sluttkaret.*

Hver fisk ble håvet ut av oppdrettskaret og lagt i en 10 liters bøtte med ferskvann tilsatt sedasjonsmiddel. Ved lokalitet A ble sedasjonsstoffet Finquel nyttet og ved lokalitet B ble Tricaine PHARMAQ brukt. Blandingsforholdet tilsvarte tung sedasjon etter oppskrift fra de respektive produsentene. Fisken ble løftet for hånd ut av bøtten når den var synlig tungt bedøvet (Fig.4). Videre ble fisken avlivet med hammer (kakk i hodet) og lagt frem på ett arbeidsbord dekt med sterile papir.



Figur 4. Tungt bedøvet fisk ved lokalitet A. Her ble sedasjonsmidlet Finquel benyttet.

Etter avlaving ble det umiddelbart tatt blodprøve av fisken. Blodprøvene ble tatt ved hjelp av EDTA-blodprøverør. Stikket ble satt i bakkant av gattfinne (Fig.5). Det ble tappet blod til blodstrømmen stoppet. Rørene ble koblet fra kanylen, rotert og satt i en isopor-boks fylt med is.



Figur 5. Figuren viser hvor på fisken stikket ble satt ved blodprøvetakingen. Den grønne firkanten indikerer hvor på fisken blodprøven tas (bak gattfinnen).

Vekt og lengde ble registrert ved hjelp av digital vekt og linjal. Fisken ble lagt direkte på vekten og vekten ble tørket av med tørkepapir mellom hver veiing. Det ble brukt samme linjal i begge forsøk. Videre ble det registrert score for velferdsindikatorer på skjema (Vedlegg 1). Alle individ ved begge lokalitetene ble undersøkt og gitt score av samme person for å sikre like kriterier. Velferdsindikatorerne som ble registrert var: Sår, risttap, hudblødninger, øyebldning og øyeskade, utstående øyne, gjellelokkskade, snuteskade, aktiv finneskade og indre blødninger. Alle punkt fikk en score fra 0 til 3. Scoren ble gitt ut i fra retningslinjer og

standarder utarbeidet av Nofima ('Velferdsindikatorer for oppdrettslaks: Hvordan vurdere og dokumentere fiskevelferd', 2018). Ved undersøkelse av indre blødninger ble fisken dissekert. Det ble brukt pinsett og skalpell for disseksjon. Disseksjonssnittet ble gjort ved å skjære loddrett ned fra bakkant av gjellene, ned bak brystfinnen til buken på høyde med bukfinnene. Derifra horisontalt bak og i overkant av bukfinnene helt bak til gattåpningen (Fig.6).

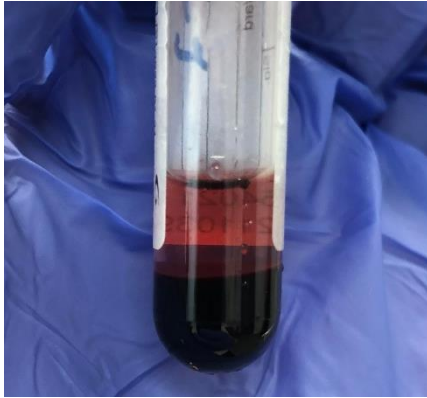


Figur 6: Skalpell og pinsett ble brukt for å dissekere fisk.

2.4. Labarbeid og analyse

2.4.1. Forarbeid og klargjøring

Prøvene fra både lokalitet A og lokalitet B ble umiddelbart fraktet til NTNU i Ålesund etter prøvetaking. Prøvene fra lokalitet A og B ble sentrifugert 2,5 timer etter siste blodprøvetaking. EDTA-rørene ble sentrifugert ved 4°C, 1500 rpm i 10 minutter ved hjelp av en sentrifuge av modellen Thermo SCIENTIFIC SL 40 FR Centrifuge. Dette for å skille røde blodceller fra blodplasma (Fig.7). Så mye blodplasma som mulig ble så pipettert med automatpipette over i 1,5ml Eppendorfrør. Eppendorfrørene ble så fryst til -80 i dypfryser i påvente av videre analyser.



Figur 7. Klar forskjell mellom blodplasma (som man kan se på toppen) og blodceller (som ligger i bunnen av EDTA-røret). Blodplasma og blodceller ble skilt ved å sentrifugere prøvene i 10 minutter ved 1500rpm i 4°C. Sentrifugen som ble benyttet var Thermo SCIENTIFIC SL 40 FR Centrifuge. Blodplasma ble videre pipettert fra EDTA-røret.

2.4.2. Kortisolanalyse

Prøvene ble analyserte ved å bruke Neogen Cortisol ELISA-kit og tilhørende metode for kortisolmåling. Etter at alle instruksjonene hadde blitt fulgt, satt vi igjen med tre plater (96x3 brønner) med prøver. 160 brønner ble først benyttet til prøveanalyser, i tillegg ble 8 brønner per plate brukt til å lage standardkurve. Det ble laget et duplikat til hver av prøvene. For å analysere prøvene, ble det besluttet å fylle hver enkelt brønn i platene med 50 µL HCl i stedet for Neogen's Stop Solution. Thermo SCIENTIFIC Multiscan GO plateleser ble brukt for å analysere prøvene. Siden HCl ble tilsatt, ble denne lest på 450 nm. I etterkant ble 54 brønner brukt for å analysere 5 prøver på nytt (3 x standardkurver, 5x 2x 3 prøver), dette for kontroll og læringsformål.

Ved hjelp av MyAssay Neogen Cortisol analyze tool (MANCAT), som er et verktøy for å kalkulere analysene fra plateleseren, ble resultatene omregnet og presenterte i ng/ml. Prøven og duplikatet for hver enkelt fisk ble slått sammen, og man fikk den gjennomsnittlige kortisolkonsentrasjonen og standardavviket oppgitt.

2.4.3. Statistisk analyse

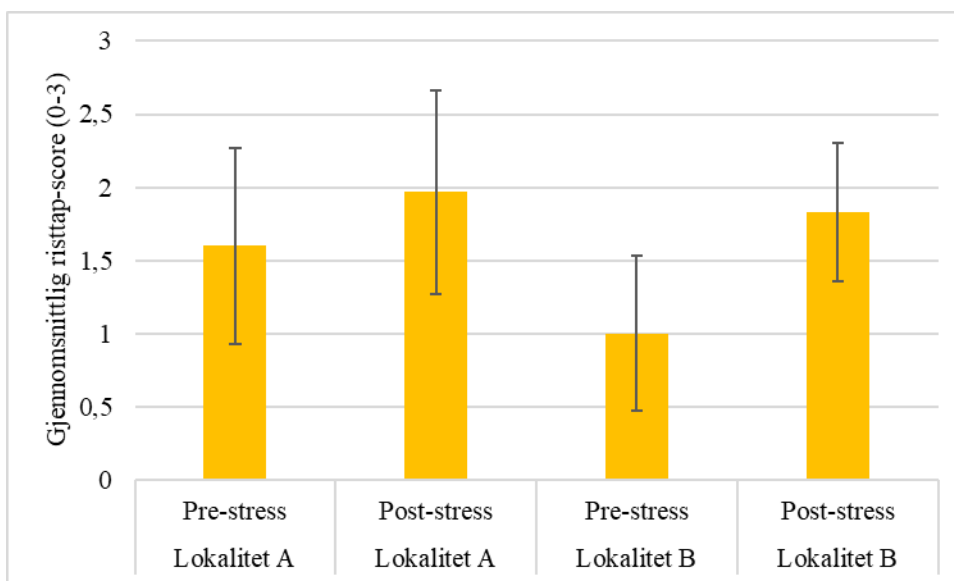
Alle rådataene fra registreringsskjemaet for skader hos smolt og fra MANCAT ble lagt inn i Excel. Dataene fra registreringsskjemaet ble bearbeidet ved å finne gjennomsnittlig lengde, vekt og standardavvik. Av dataene beregnet av MANCAT ble det gjort en statistisk analyse ved hjelp av RStudio for Windows. Denne statistiske analysen ble gjort i samarbeid med Snorre Bakke, førsteamanuensis ved Institutt for biologiske fag ved NTNU i Ålesund. Det ble gjort en toveis ANOVA-variansanalyse for å sjekke endringer fra pre-stress til et tidspunkt etter fisken var

flyttet. Der hvor det ble funnet en signifikant forskjell fra en gruppe sammenlignet en gruppe fra kontrollen (pre-stress) ble i figuren markert med *. Grensen for den signifikante forskjellen ble satt til 0,05.

3. Resultat

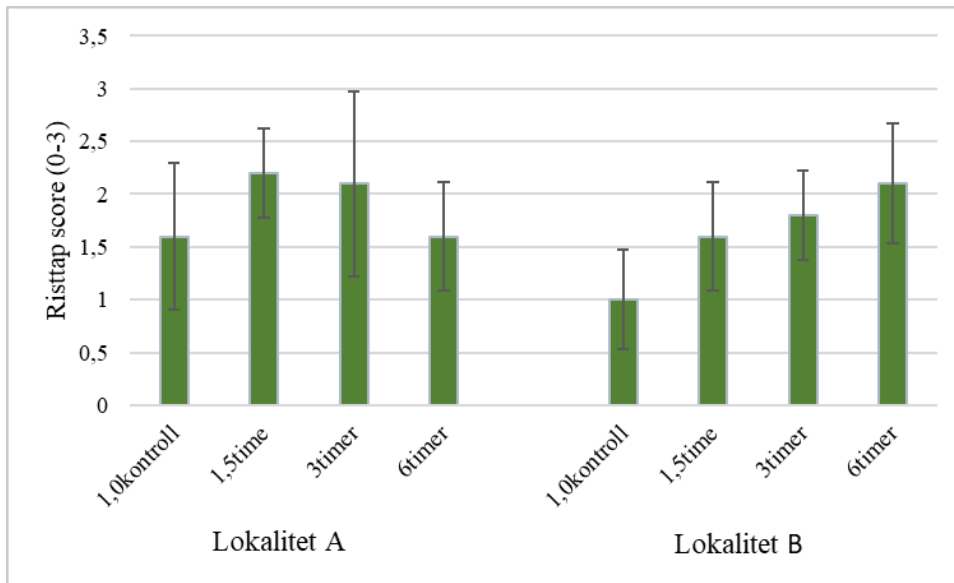
3.1. Fysiske skader

Det ble registrert score for velferdsindikatorer (fysiske skader) på hvert av individene ved kontroll, og ved 1,5 time, 3 timer og 6 timer etter flytting (Vedlegg 1). Ved undersøkelse av velferdsindikatorer ble det ikke funnet forandring i andre velferdsindikatorer enn risttap.



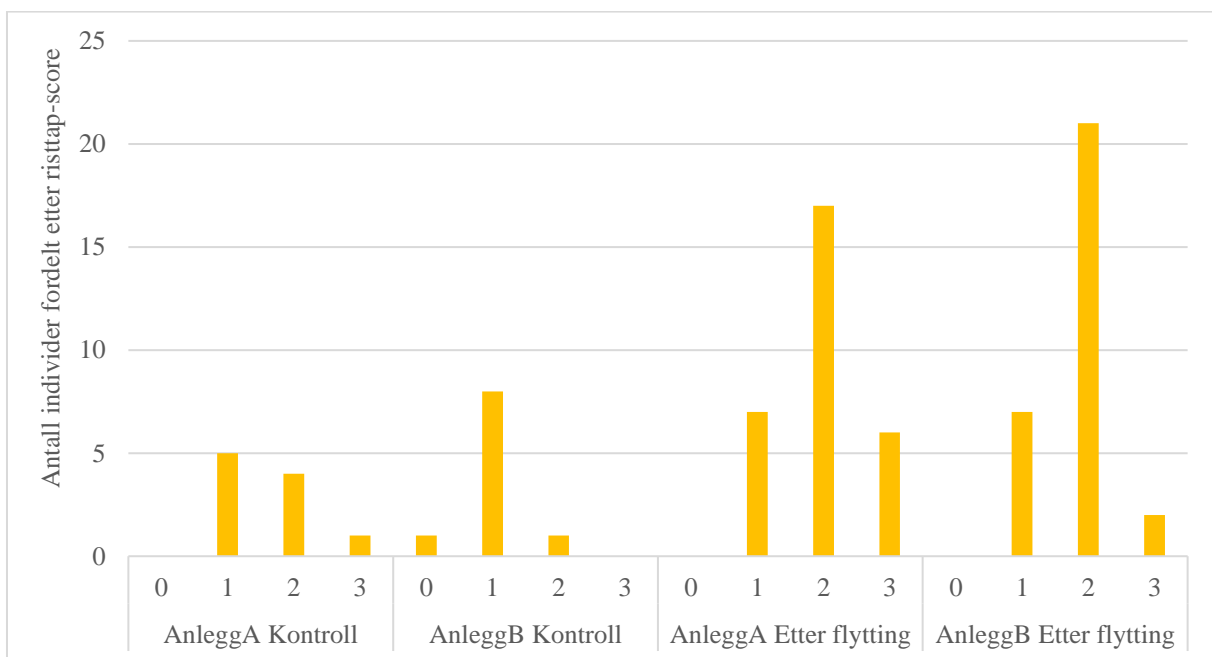
Figur 8. Oversikt over det gjennomsnittlige risttapet pre- og poststress ved lokalitet A og B og deres tilhørende standardavvik. Hver stolpe på pre-stress er gjennomsnittet hos 10 individer, mens ved post-stress er utvalget gjennomsnittet hos 30 individ.

Det ble registrert et høyere gjennomsnitt i scoren for risttap etter flyttingen enn før flytting av fisken ved begge lokalitetene (Fig.8). Lokalitet A hadde et høyere gjennomsnittlig risttap enn lokalitet B ved kontrollen og etter flytting, men økningen var mindre. Ved lokalitet A økte scoren med 0,37, mens ved lokalitet B økte scoren med 0,83.



Figur 9. Oversikt over gjennomsnittlig risttap med tilhørende standardavvik funnet ved de to lokalitetene ved ulike tidspunkt. Ut fra kriterier fikk hvert enkelt individ en score på risttap fra 0 til 3, hvor 0 var minst og 3 var mest risttap. 1.0 kontroll er pre-stress, mens 1,5 time, 3 timer og 6 timer er etter fisken var eksponert for stressor. Gjennomsnittet for hver stolpe baserer seg på et utvalg på 10 fisk.

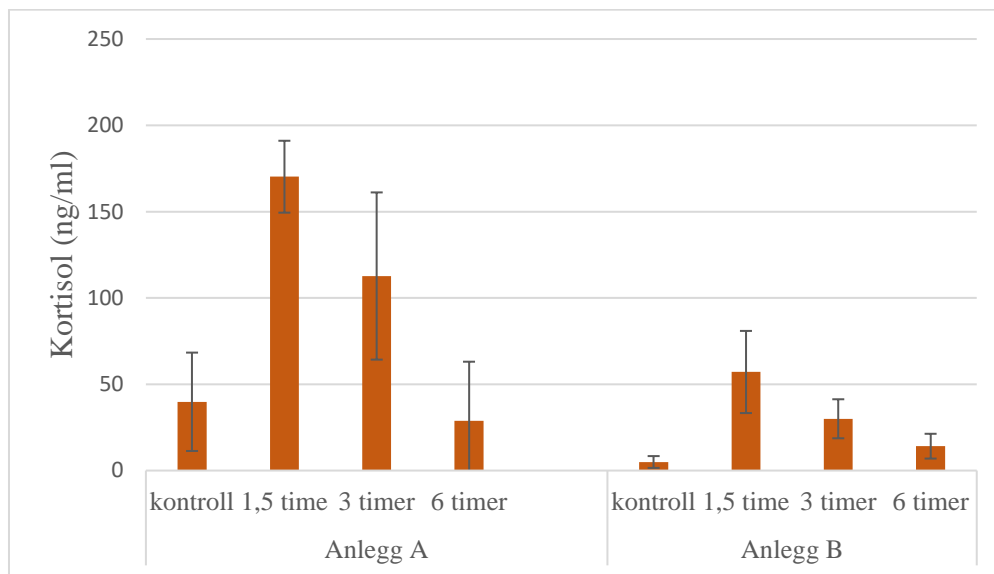
Ved lokalitet A øker scoren fra kontrollen til 1,5 time, men deretter begynner den å avta til den er på det samme nivået som den var ved kontrollen (Fig.9). Man kan også se det ved lokalitet B øker scoren jevnt etter kontrollen (Fig.10). Det ble ikke foretatt en statistisk analyse grunnet et for lite utvalg på hvert av tidspunktene for de aktuelle lokalitetene.



Figur 10. Fordelingen av individer etter risttap-score, kategorisert etter lokalitet, og videre sortert mellom kontroll og etter flytting.

I kontrollen ved lokalitet A kan man se flere scorerer på 2 og 3, sammenlignet med kontrollen ved lokalitet B. Etter flytting har begge lokalitetene like mange individ med score 1, lokalitet B har flest på 2, mens lokalitet A har 6 individ med en score på 3, til forskjell fra lokalitet B med 2 individer med score 3 (Fig.10).

3.2. Plasmakortisol



Figur 11. Oversikt over de gjennomsnittlige kortisolnivåene funnet i blodplasma ved de to lokalitetene ved ulike tidspunkt. I tillegg vises standardavviket ved hvert enkelt tidspunkt. Kontroll er før flytting, mens 1,5 time, 3 timer og 6 timer er etter flytting. Gjennomsnittet for hver stolpe baserer seg på et utvalg på 10 fisk.

Før fisken ble flyttet ved lokalitet A, lå det gjennomsnittlige nivået på $39,85 \pm 28,5$ ng/ml. 1,5 time etter fisken var flyttet, økte det til $170,24 \pm 20,82$ ng/ml, før det begynte å synke. Etter 3 timer var det på $112,71 \pm 48,43$ ng/ml og etter 6 timer var det lavere enn ved kontrollen ($28,82 \pm 34,25$ ng/ml) (Fig.11).

Fisken ved lokalitet B hadde et lavere gjennomsnittlig kortisolnivå ved kontrollen enn fisken ved lokalitet A. Gjennomsnittet her var på $4,97 \pm 3,43$ ng/ml, før det økte etter 1,5 time. Det høyeste nivået ble registrert etter 1,5 time, da var det på $57,11 \pm 23,79$ ng/ml. Det gjennomsnittlige kortisolnivået ved de ulike tidspunktene i lokalitet B, utspiller seg forholdsvis lignende som ved lokalitet A, ved at det også er dalende etter 1,5 time. Ved 3 timer etter flytting ligger gjennomsnittlig kortisolnivå på $30,01 \pm 11,31$ ng/ml og etter 6 timer $14,13 \pm 7,18$ ng/ml (Fig.11).

Fisken ved lokalitet B har lavere gjennomsnittlige nivåer ved alle tidspunkter enn ved lokalitet A. Begge lokalitetene følger en lignende trendlinje, hvor man finner den høyeste målte verdien ved begge lokalitetene 1,5 time etter flytting (påført stressor), og den laveste verdien 6 timer etter flytting. Ved lokalitet A er nivået lavere 6 timer etter flytting enn ved kontrollen. Dette til forskjell fra lokalitet B, hvor nivået er høyere etter 6 timer enn ved kontrollen (Fig.11).

Tabell 1. Resultater fra en toveis ANOVA-analyse gjort ved hjelp av RStudio. Denne tabellen viser at det er en signifikant forskjell mellom alle de ulike tidspunktene unntatt ved 6 timer ved de to lokalitetene, sammenlignet med kontrollen. I tabellen kan man også se at det er en signifikant forskjell mellom 3 timer og 1,5 time, 6 timer og 1,5 time og 6 timer og 3 timer.

Tidspunkter		Differanse	Signifikansnivå	Signifikant forskjell
1,5 time	Kontroll	91.27	0.0000001	JA
3 timer	Kontroll	48.95	0.0000007	JA
6 timer	Kontroll	-0.93	0.9995	NEI
3 timer	1,5 time	-42.32	0.0000159	JA
6 timer	1,5 time	-92.2	0.0000001	JA
6 timer	3 timer	-49.88	0.0000004	JA

I resultatene fra begge lokalitetene ble det funnet signifikante forskjeller i nivåene for plasmakortisol (Tab.1). Det ble utført en statistisk analyse ved hjelp av en toveis ANOVA-analyse, hvor det ble klart at resultatene ved begge lokalitetene hadde likhetstrekk. De ulike tidspunktene hvor kortisolnivået ble målt, ble stilt opp imot den tilhørende kontrollen. Det ble funnet en signifikant forskjell mellom kontrollen mot 1,5 og 3 timer, men ikke mot 6 timer. Dette gjelder resultatene fra begge de aktuelle lokalitetene. Det ble også funnet signifikant forskjell når en stiller 3 timer mot 1,5 time, 6 timer mot 1,5 time, og ved 6 timer mot 3 timer.

4. Diskusjon

Resultatene fra de to forsøkene kan grunnet flere faktorer være ikke direkte sammenlignbare. Miljøforhold (salinitet), transportmetode, og manglende bakgrunnshistorikk gjør utgangspunktet for forsøkene ulike, og resultatene må leses i lys av dette. Likevel kan resultatene gi informasjon om hvordan hver enkelt fisk i de ulike lokalitetene har tålt transportmetoden som ble brukt.

I det første forsøket (lokalitet A), ble fisk fra flere mindre oppdrettskar flyttet over i ett større kar. Kontrollen (10 fisk) ble tatt ut fra det ene av startkarene og vi vet derfor ikke noe om det gjennomsnittlige plasmakortisol-nivået i de startkarene vi ikke tok prøver fra. Prøvene tatt etter 1,5, 3 og 6 timer inneholder derfor høyst trolig fisk fra de startkarene vi ikke har kontrollprøver fra. Ideelt sett skulle det blitt tatt kontrollprøver fra alle kar, eventuelt tatt prøve etter 1,5, 3 og 6 timer fra samme gruppe fisk (lokalitet A). Dette kunne vært gjennomført ved å flytte fisk fra bare ett kar over i sluttkaret, men fordi operasjonen ble gjort i henhold til normal drift ble dette ikke prioritert. I det andre forsøket (lokalitet B) ble det tatt prøver av den samme gruppen fisk før og etter flytting. Dette fordi et utvalg fisk utelukkende fra kontrollkaret ble sendt direkte over i ett rustfritt bur i sluttkaret. Fisken stod i dette buret i seks timer og det ble hentet ut prøver etter 1,5, 3 og 6 timer. Miljøforholdene i buret kan ha vært noe ulike fra forholdene utenfor buret grunnet mindre volum og ulikt fra sluttkaret i det første forsøket.

Antall fisk med høyeste score (3) for risttap før og etter flytting i lokalitet A var henholdsvis 1 og 5. I lokalitet B var antallet 0 og 1. Resultatene tyder på at flere fisk har nådd den dårligste scoren for risttap i lokalitet A enn i lokalitet B. Fisken i lokalitet A hadde gjennomsnittlig høyere risttap enn fisken i lokalitet B etter flytting. Økningen i risttap var lavere i lokalitet A enn lokalitet B. Med tanke på at flere fisk har fått «alvorlig» risttap og score 3 etter flytting i lokalitet A kan det være vanskelig å avgjøre hvilken metode som førte til mest alvorlig risttap. For å kunne komme med en uttalelse om risttap, burde det vært gjennomført en statistisk analyse. Om det hadde blitt funnet signifikante forskjeller, kunne vi kanskje sagt hvilken metode som var mest skånsom. Den statistiske analysen ble ikke gjennomført, da tiden ikke strakk til og for å få signifikante forskjeller, så skulle kanskje utvalget vært noe større.

I det første forsøket (lokalitet A) kan resultatene tyde på en tendens til økning i risttap fra kontroll til 1,5 time etter flytting. Videre kan resultatene tyde på en nedgang i risttap 6 timer etter flytting. Om man ser på kortisolnivåene etter 1,5 time, var nivåene de høyeste sett i målingene. Fisken som er mest stresset, har ifølge resultatene i denne studien, de høyeste

nivåene for risttap. For å få fisken fra kar over i bølge med sedasjonsmiddel ble det benyttet hån, som kan føre til enda større risttap (Noble *et al.*, 2018). Den stressede fisken har en mer panisk atferd (Svendsen *et al.*, 2021) og sprelling/panikk i hånven kan ha ført til de høye risttap-scorene vi registrerte. Etter hvert som kortisolnivåene blir lavere, ser vi også mindre risttap. I det andre forsøket (lokalitet B) ser vi en økning i risttap fra 1,5 time til 6 timer. I denne perioden har fisken stått i ett mindre stålbur i oppdrettskaret. Økningen i risttap etter opphold i buret kan tyde på at fisken har mistet skjell av enten tetthet av fisk eller at fisken har skrapet/stanget i burveggen. Buret hadde hull for gjennomstrømming av vann og dette kan ha påvirket risttapat. De mest pålitelige resultatene kan derfor tenkes å være etter 1,5 time, og resultatene fra 3 og 6 timer kan i høyere grad være påvirket av burets utforming og tettheten av fisk. Fiskens tetthet i bølten med bedøvelsesmiddel kan også ha gjort risttapat høyere. Laks som gjennomgår smoltifiseringsprosess har løsere skjell (Espmark *et al.*, 2015) og det kan derfor stilles spørsmål ved om bruken av hån i denne perioden er lite egnet, dette av hensyn til både fiskevelferd og smoltkvalitet. For smolt som skal flyttes fra ferskvann til sjøvann, er risttap ekstra skadelig da fisken vil kunne få dårligere evne til osmoseregulering (Ellingsen, Moljord and Evensen, 2019). For laksefisk kan det ta opp mot 3 måneder å få tilbake skjellene som den har mistet (Schmidt, 2013). Med mye risttap kan smolten få et dårlig utgangspunkt for livet i saltvann.

All smolt brukt i forsøket ble dissekert for å se etter indre blødninger. Indre blødninger skulle registreres om det ble funnet ferskt blod i buken. Det ble ikke funnet ferskt blod forårsaket av håntering den gjeldende dagen. Det ble funnet koagulert blod rundt vaksinstikk, på samme sted i flere individer. Både fisk i lokalitet A og i lokalitet B hadde blitt vaksinert kort tid før forsøkene ble gjennomført. I noen fisk ble det ved uhell stukket hull på organer og blodårer med skalpell under disseksjon, dette ble oppdaget, og det ble konkludert med at blodet ikke hadde sammenheng med håntering.

Saliniteten i sluttkaret i lokalitet A var 34‰ og saliniteten i sluttkaret i lokalitet B var 5‰. Dette innebærer at miljøforskjellene mellom sluttkarene i lokalitetene er betydelige. Ved høyere salinitet er det funnet høyere plasmakortisolnivå og det er mer energikrevende for smolten å osmoseregulere ved høyere saltkonsentrasjoner (Ytrestøyl *et al.*, 2020). Også ved høyere plasmakortisolnivå i blodet vil smoltens evne til å osmoseregulere bli dårligere (Iversen *et al.*, 2005). Forsøket i lokalitet A viser høyere plasmakortisolnivå i utgangspunktet, noe som kan påvirke smoltens evne til å håntere overgangen til saltvann (34‰). Dette kan ha påvirket de høye plasmakortisolnivåene etter 1,5 time i lokalitet A. Videre ser vi at plasmakortisol-nivåene har sunket til under kontrollnivåene etter 6 timer, noe som kan tyde på at fisken har tilpasset

seg miljøforholdene i sluttkaret. Ettersom plasmakortisolnivåene var høyere ved kontrollen en ved 6 timer etter flytting (lokalitet A) kan det tyde på at fisken hadde gjennomgått smoltifiseringsprosessen og var godt tilpasset 34‰ saltvann.

I begge forsøkene ble smolten håvet ut av karet, over i en 10 liters plastbøtte med sedasjonsmiddel og derfra løftet for hånd opp på ett arbeidsbord for så å bli avlivet (kakkert i hodet med hammer). Resultatene må sees i lys av dette, og det er naturlig å tenke at plasmakortisolnivåene kan ha steget som følge av denne håndteringen. Det ble brukt samme metode for avliving ved begge lokaliteter, men sedasjonsmiddelet som ble benyttet var ulikt mellom lokalitetene. Det er usikkert om dette kan ha påvirket resultatene.

Toppnivå for plasmakortisol er forventet nådd mellom 1 og 4 timer (Espelid *et al.*, 1996; Iversen, Finstad and Nilssen, 1998). Toppnivåene kan komme på ulike tidspunkt litt etter hvilken stressor fisken blir utsatt for. Våre resultater viser de høyeste kortisolverdiene 1,5 time etter flytting. Etter 3 timer har kortisolnivået gått betydelig ned. Det er derfor naturlig å tro at toppnivået for plasmakortisol forekom et sted mellom flytting og 3 timer etter flytting. For å få et mer nøyaktig bilde av når toppnivåene forekom, kunne flere prøver blitt tatt i tidsrommet mellom flytting og 3 timer etter flytting. Grunnet begrensinger knyttet til varighet og ressurser ble det besluttet å ta utgangspunkt i gitt intervall (kontroll, 1,5 time, 3 timer og 6 timer). Med den informasjonen som foreligger i tidligere forskning, antas det at registrerte toppnivåer etter 1,5 time er relativt korrekte. Det ble benyttet en toveis ANOVA-analyse, hvor de ble funnet signifikante forskjeller mellom det gjennomsnittlige kortisolnivået i kontrollen mot 1,5- og 3 timer. Det ble derimot ikke funnet en signifikant forskjell mellom kontrollen og 6 timer etter flytting, noe som tilsier at kortisolnivåene er bort imot tilbake på normalt nivå, slik det var ved kontrollen. Det ble også funnet en signifikant forskjell mellom gjennomsnittet ved 1,5 time og 3 timer, som betyr at nivået har blitt redusert signifikant mellom disse tidspunktene. Dette gjaldt begge lokalitetene.

I forsøk gjort ved lokalitet A viser kortisolnivåene høyere verdier i kontrollen enn etter 6 timer. Dette kan tyde på at smolten er mindre stresset 6 timer etter flytting, men det var ingen signifikant forskjell. Funn fra tidligere forskning viser at smolt ikke har nådd hvileverdier før opp til 48 timer etter eksponering for stressor (Carey and McCormick, 1998). Det kan derfor tyde på at smolten i lokalitet A og B etter relativt kort tid har tilpasset seg de nye omgivelsene. De høye kontrollnivåene av plasmakortisol kan være utløst av en ukjent stressor i tiden før gruppen ble tatt ut for kontroll. Dette kan være grunnet aktivitet rundt karet, krevende miljøforhold, høye lyder, dødfiskopptak eller andre forstyrrende faktorer.

Nivåer målte i tidligere forskning på transportsituasjoner med samme art og relativt lik vekt viser høye kortisolnivåer, ganske mye høyere enn de nivåene som sees i dette forsøket. Eksempelvis viser ett forsøk med smolt (mellom 73 gram og 100 gram) under transport ett maksimum for kortisol på 413,4 ng/ml (Nomura *et al.*, 2009). I et forsøk med villfisk av samme art med noe lavere vekt ble det målt toppnivåer på 329 og 214 ng/ml mot bunnivåer på 58 og 29 ng/ml. Det ble i dette forsøket i likhet med lokalitet A brukt håv for løfte fisken. I det tidligere forsøket nevnt her ble fisken håvet over i en 1200-liters tank, for så å bli fraktet med bil til en elv for utsett (Iversen, Finstad and Nilssen, 1998). I lokalitet A og B var håndteringen relativt kortvarig sammenlignet med eksempelvis transport i bil som nevnt over. Dette kan forklare at nivåene for plasmakortisol i lokalitet A og B er lavere.

I forsøk gjort ved settefiskanlegg i Canada ble atlantisk laksesmolt ved to lokaliteter vakuumpumpet over i tankbiler for transport til sjøanlegg. Fisken her var i gjennomsnitt 99,5 gram og 73,6 gram. Fisken ble flyttet fra settefiskanlegget og over i tankbil før det ble tatt blodprøver for måling av kortisolnivå. Ferskvannet i settefiskanlegget og i tankbilene var det samme. Nivåene her gikk fra mellom 20 og 25 ng/ml en dag før transport til 120 og 125 ng/ml rett etter overføring til tankbil (Nomura *et al.*, 2009). Dette er noe høyere nivå enn ved forsøket i lokalitet B med relativt lik pumpemetode, vekt og miljøforhold.

Fisken som ble flyttet i lokalitet A viser høyere kontrollnivåer for plasmakortisol, høyere toppnivåer og økningen fra kontrollnivå til toppnivå er høyere enn i lokalitet B. Dette kan også sees på den statistiske analysen (Tab. 1). Her ble det klart at det var signifikante forskjeller mellom det gjennomsnittlige kortisolnivået ved de to lokalitetene. Fisken i lokalitet A viser også dårligere score for risttap. Utgangspunktet og livsstadiet de to gruppene var på var noe ulike, og resultatene vil ikke være direkte sammenlignbare. I utgangspunktet var målet å finne ut hvilken metode for flytting som var mest skånsom for fisken, dette kan ikke fastslås ut ifra resultatene. For å kunne si mer om dette måtte de to forsøksgruppene og miljøforholdene vært likere. Selv om resultatene ikke er fullt sammenlignbare kan det tyde på at fisken i lokalitet B tålte håndteringen den ble utsatt for bedre enn det fisken i lokalitet A gjorde.

Per dags dato er det mange aktører som satser på landbasert oppdrett både nasjonalt og globalt. Dette er en utvikling som har skjedd grunnet et økt fokus på blant annet miljø og fiskehelse, og at teknologien som kreves har kommet lengre. Ved en produksjonssyklus fra start til slutt på land, vil man kanskje kunne unngå lakselus og smittsomme sykdommer. Landbasert oppdrett vil i motsetning til matfiskproduksjon på havet, ikke ha de samme konsekvensene for miljøforholdene rundt (forutsatt god håndtering av avløpsvann og biologisk avfall, og lave

utslipp knyttet til energiforbruk). I tillegg kan man oppnå kortreist mat i områder uten egnede havområder, da dagens RAS-anlegg krever lite vann og man praktisk talt kan produsere fisk nesten hvor som helst (Benjaminsen, 2021). Alt dette m.m. har forårsaket at det har blitt gitt utviklingskonsesjoner, som gjør det mer aktuelt for ulike aktører å satse på en landbasert produksjon. Ved å flytte hele eller store deler av produksjonssyklusen på land vil også håndtering og flytting skje på land. Derfor bør det også fokuseres på flytting av fisk internt i anlegget. Fisken vil gå gjennom mange forflytninger til nye kar og dette kan påvirke fisken forskjellig i dens ulike livsstadier. Som vi har sett i denne oppgaven, så innebærer flytting av fisk en påkjenning for hvert enkelt individ, og det vil være fordelaktig å finne en så skånsom metode som mulig. Denne oppgaven antyder at risttapet økte ved begge lokalitetene. Skjellene til fisken er den første barrieren mot virus- og bakterieinfeksjoner, og i tillegg vil det kreve mer energi ved osmoseregulering ved økt risttap (Noble *et al.*, 2018). Det gjennomsnittlige kortisolnivået økte også ved flyttingen på begge lokalitetene. Når man utsetter individer for stress, vil den primære stressresponsen gjøre at hormonet kortisol blir skilt ut av de endokrine kjertlene rett ut i blodomløpet. Dette hormonet forandrer dyrets oppførsel og hjernefunksjon, slik at det skal være klar til å håndtere utfordringer. Et økt stressnivå kan føre til konsekvenser for oppdretteren og fisken. Den sekundære stressresponsen kan føre til et økt antall røde blodceller, økte glukosenivå i blodet og redusert appetitt. Deretter kan den tertiære stressresponsen gi konsekvenser ved forandringer som nedsatt vekst og reproduksjonsevne, og gi økt dødelighet (Ellis *et al.*, 2011). Med å ha i bakhodet de konsekvensene flytting har på fisken, bør man velge løsninger som sikrer god fiskevelferd.

Kildeliste

- Adams, C. *et al.* (2000) 'Size heterogeneity can reduce aggression and promote growth in Atlantic salmon parr', *Aquaculture International*, 8(6), pp. 543–549. doi: 10.1023/A:1009255612529.
- Alsos, V. (2020) 'Måling av kortisol i Atlantisk laks (*Salmo salar* L.). Vurdering av ulike metoder og deres nytte av operative velferdsindikatorer', 49 S.
- Andrews, M. *et al.* (2015) 'Rapid temperature-dependent wound closure following adipose fin clipping of Atlantic salmon *Salmo salar* L', *Journal of Fish Diseases*, 38(6), pp. 523–531. doi: 10.1111/jfd.12261.
- Ashley, P. J. (2007) 'Fish welfare: Current issues in aquaculture', *Applied Animal Behaviour Science*, 104(3–4), pp. 199–235. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2006.09.001.
- Barton, B. A. *et al.* (1985) 'Changes in plasma cortisol during stress and smoltification in Coho Salmon, *Oncorhynchus kisutch*', *General and Comparative Endocrinology*, 59(3), pp. 468–471. doi: 10.1016/0016-6480(85)90406-X.
- Benjaminsen, C. (2021) 'Nå skal oppdrettsfisken på land - SINTEF', 3 February. Available at: <https://www.sintef.no/siste-nytt/2021/na-skal-oppdrettsfisken-pa-land/> (Accessed: 13 May 2022).
- Branson, E. J. (2008) *Fish Welfare, Fish Welfare*. John Wiley & Sons. doi: 10.1002/9780470697610.
- Cao, Y., Tveten, A. K. and Stene, A. (2017) 'Establishment of a non-invasive method for stress evaluation in farmed salmon based on direct fecal corticoid metabolites measurement', *Fish & Shellfish Immunology*, 66, pp. 317–324. doi: 10.1016/J.FSI.2017.04.012.
- Carey, J. B. and McCormick, S. D. (1998) 'Atlantic salmon smolts are more responsive to an acute handling and confinement stress than parr', in *Aquaculture*. Elsevier, pp. 237–253. doi: 10.1016/S0044-8486(98)00352-4.
- Cembalo, L. *et al.* (2016) 'Determinants of Individual Attitudes Toward Animal Welfare-Friendly Food Products', *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 29(2), pp. 237–254. doi: 10.1007/S10806-015-9598-Z/TABLES/6.
- Conte, F. S. (2004) 'Stress and the welfare of cultured fish', *Applied Animal Behaviour Science*, 86(3–4), pp. 205–223. doi: 10.1016/J.APPLANIM.2004.02.003.
- Duncan, I. J. H. (2005) 'Science-based assessment of animal welfare: farm animals', *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 24(2), pp. 483–492.
- Ellingsen, S., Moljord, M. and Evensen, Ø. (2019) 'Varmtvannsbehandling av atlantisk laks – effekt på hud og andre ytre overflater', *Norges miljø- og biovitenskapelige universitet*.
- Ellis, T. *et al.* (2011) 'Cortisol and finfish welfare', *Fish Physiology and Biochemistry* 2011 38:1, 38(1), pp. 163–188. doi: 10.1007/S10695-011-9568-Y.
- Espelid, S. *et al.* (1996) 'Effects of cortisol and stress on the immune system in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.)', *Fish and Shellfish Immunology*, 6(2), pp. 95–110. doi: 10.1006/FSIM.1996.0011.
- Espmark, Å. M. O. *et al.* (2015) *Pumping og håndtering av smolt*. Available at:

<https://nofima.brage.unit.no/nofima-xmlui/handle/11250/283157>.

Ferguson, R. A. and Tufts, B. L. (1992) 'Physiological Effects of Brief Air Exposure in Exhaustively Exercised Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Implications for "Catch and Release" Fisheries', *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49(6), pp. 1157–1162. doi: 10.1139/F92-129.

Fiskeridirektoratet (2015) 'Meld. St. 16 (2014-2015)', 16, p. 88. Available at: <https://www.regjeringen.no/no/dokumenter/meld.-st.-16-2014-2015/id2401865/>.

Fiskeridirektoratet (2021a) *Akvakulturstatistikk: matfiskproduksjon av laks, regnbueørret og ørret, Akvakulturstatistikk*. Available at: <https://www.fiskeridir.no/Akvakultur/Tall-og-analyse/Akvakulturstatistikk-tidsserier/Laks-regnbueoerret-og-oerret/Matfiskproduksjon> (Accessed: 8 March 2022).

Fiskeridirektoratet (2021b) *Redusert salgsverdi i oppdrettsnæringen i 2020*. Available at: <https://www.fiskeridir.no/Akvakultur/Nyheter/2021/reduisert-verdiskapning-i-oppdrettsnaeringen-i-2020> (Accessed: 13 May 2022).

Hjeltnes, B. *et al.* (2008) *Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety Transportation of fish within a closed system Norwegian Scientific Committee for Food Safety*.

Iversen, M. *et al.* (2005) 'Stress responses in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts during commercial well boat transports, and effects on survival after transfer to sea', *Aquaculture*, 243(1–4), pp. 373–382. doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.10.019.

Iversen, M., Finstad, B. and Nilssen, K. J. (1998) 'Recovery from loading and transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts', *Aquaculture*, 168(1–4), pp. 387–394. doi: 10.1016/S0044-8486(98)00364-0.

Iwama, G. K. (2006) 'Stress in fish: A tribute to Dave Randall, mentor and friend', *Annals of the New York Academy of Sciences*. doi: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb09005.x.

Jobling, M. *et al.* (2012) *7 Appetite and Feed Intake*.

Lovdata (2009) *Lov om dyrevelferd - Lovdata, Lovdata*. Available at: <https://lovdata.no/dokument/NL/lov/2009-06-19-97> (Accessed: 17 March 2022).

Mattilsynet (2022) 'Fiskevelferd | Mattilsynet'. Available at: https://www.mattilsynet.no/fisk_og_akvakultur/fiskevelferd/ (Accessed: 3 May 2022).

Midling, Å. M., Nilsson, K. Ø. and Humborstad, J. (2016) 'Effects of Pumping Height and Repeated Pumping in Atlantic Salmon *Salmo salar*', *Natural Resources*, 7, pp. 377–383. doi: 10.4236/nr.2016.76032.

Noble, C. *et al.* (2012) 'the Bio-Economic Costs and Benefits of Improving Productivity and Fish Welfare in Aquaculture: Utilizing Co2 Stripping Technology in Norwegian Atlantic Salmon Smolt Production', *Aquaculture Economics and Management*, 16(4), pp. 414–428. doi: 10.1080/13657305.2012.729251.

Noble, C. *et al.* (2018) 'Velferdsindikatorer for oppdrettslaks: Hvordan vurdere og dokumentere fiskevelferd'. Available at: www.nofima.no/fishwell (Accessed: 24 January 2022).

Nomura, M. *et al.* (2009) 'Physiology and behaviour of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts during commercial land and sea transport', *Physiology & Behavior*, 96(2), pp. 233–243. doi:

10.1016/J.PHYSBEH.2008.10.006.

Persson, D. *et al.* (2022) ‘Analysing mortality patterns in salmon farming using daily cage registrations’, *Journal of Fish Diseases*, 45(2), pp. 335–347. doi: 10.1111/JFD.13560.

Peter, R. E., Paulencu, C. R. and Barton, B. A. (1980) ‘Plasma Cortisol Levels of Fingerling Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) at Rest, and Subjected to Handling, Confinement, Transport, and Stocking’, <https://doi.org/10.1139/f80-108>, 37(5), pp. 805–811. doi: 10.1139/F80-108.

Pettersen, J. M. *et al.* (2014) ‘Salmon welfare index model 2.0: An extended model for overall welfare assessment of caged Atlantic salmon, based on a review of selected welfare indicators and intended for fish health professionals’, *Reviews in Aquaculture*, 6(3), pp. 162–179. doi: 10.1111/raq.12039.

Schmidt, J. G. (2013) ‘Wound healing in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and common carp (*Cyprinus carpio*) with a focus on gene expression and wound imaging’, *Technical University of Denmark*.

Schreck, C. B. (1982) ‘Stress and rearing of salmonids’, *Aquaculture*, 28(1–2), pp. 241–249. doi: 10.1016/0044-8486(82)90026-6.

Svendsen, E. *et al.* (2021) ‘Heart rate and swimming activity as stress indicators for Atlantic salmon (*Salmo salar*)’, *Aquaculture*, 531, p. 735804. doi: 10.1016/J.AQUACULTURE.2020.735804.

Thompson, A. M. *et al.* (2011) ‘Mortality in juvenile salmonids passed through an agricultural Hidrostral pump’, *Fisheries Management and Ecology*, 18(4), pp. 333–338. doi: 10.1111/J.1365-2400.2011.00789.X.

‘Velferdsindikatorer for oppdrettslaks: Hvordan vurdere og dokumentere fiskevelferd’ (2018). Available at: www.nofima.no/fishwell (Accessed: 22 March 2022).

Wiik-nielsen, J. *et al.* (2022) ‘Fiskehelse rapporten’, *Veterinærinstituttets rapportserie*, 2a.

Xiao, L. *et al.* (2015) ‘Movement characteristics of fish in a jet fish pump’, *Ocean Engineering*, 108, pp. 480–492. doi: 10.1016/J.OCEANENG.2015.08.039.

Ytrestøyl, T. *et al.* (2020) ‘Performance and welfare of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. post-smolts in recirculating aquaculture systems: Importance of salinity and water velocity’, *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(2), pp. 373–392. doi: 10.1111/JWAS.12682.

Vedlegg

Vedlegg 1

Tabellen viser skjema brukt for registrering av skader, lengde og vekt.

REGISTRERINGSSKJEMA FOR SKADER HOS SMOLT											
DATO:		TID:		VANNTEMPORATUR:			LOKALITET:				
Fisk nr.	Sår	Risttap	Hud-blødninger	Øyeblikning, skade	Utstående øye	Gjellelokk-skade	Snuteskade	Aktiv finneskade	Indre Blødninger	Lengde (cm)	Vekt (g)
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											

BEDØVELSESMIDDEL:

Benzoakk Tricaine PHARMAQ Finquel Aqui-5 Ingen

