

10



# Smoltifisering hos atlantisk laks

Martin Haugmo Iversen<sup>1</sup> og Bengt Finstad<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Nord universitet, <sup>2</sup> Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet

## SAMMENDRAG

Dette kapitlet tar for seg de generelle prinsippene rundt smoltifisering hos laksefisk. Kapitlet starter med en generell introduksjon til laksebiologi. Videre blir de biologiske prosessene rundt smoltifisering beskrevet, miljøsignaler som leder til smoltifiseringsprosessen og hvordan disse kontrolleres rent hormonelt og fysiologisk. Laksens atferdsmessige endringer under smoltifiseringen beskrives også og videre forklaring av begrepet «smoltvinduet» og desmoltifisering. Det blir også tatt med en beskrivelse hvordan man tar en enkel sjøvannstesting av smolt for å være sikker på at den er klar til overføring fra ferskvann til sjøvann samt utfordringer rundt smoltifiseringsprosessen.

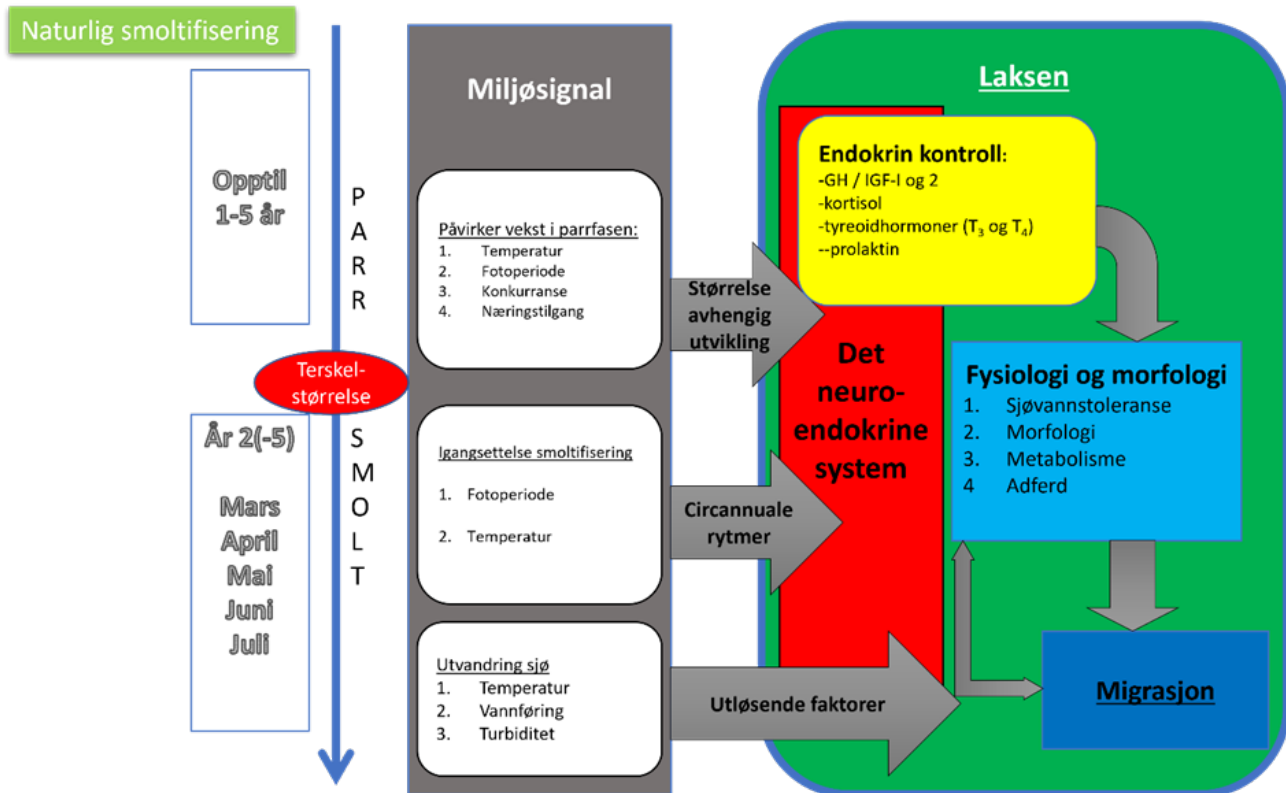
## 10.1 INTRODUKSJON

I naturen begynner livet til laksefisk i ferskvann. Voksen laks gyter i elvene, eggene klekkes og utvikler seg til plommeseekkyngel, for så å utvikle seg videre til yngel og parr. Se kapittel 21 for en videre beskrivelse av disse biologiske prosessene. Når parren har nådd en viss størrelse (>10 cm) er den klar for neste trinn. På dette stadiet igangsetter miljøsignaler smoltifiseringsprosessen, som skal forberede fisken for utvandring til havet, hvor de vil vokse opp som en marin predator. Under norske forhold vandrer de sørlige bestandene ut tidligere enn de nordlige og vi sier at en terskelverdi i det marine miljø på mer enn 6 °C er avgjørende for optimal overlevelse hos laksesmolt som etter utvandring vil betegnes som postsmolt. Oppveksttiden i elven kan variere fra 1-8 år før smoltene vandrer ut i det marine miljø. Størrelsen på villsmoltene kan variere fra 10-20 cm og fra 10-80 gram. Faktorer som økt vanntemperatur og vannføring er utløsende faktorer som stimulerer smoltutvandringen. Vanligvis er den største utvandringen fra elv til sjø om natten, men mot slutten av smoltutvandringsperioden er det liten forskjell i utvandringen mellom dag og natt. Ved høyre breddegrader der det er liten forskjell på dag og natt ser utvandringen ut til å foregå gjennom hele døgnet.

Denne anadrome strategien gir reproduktive og utviklingsmessige fordeler til laks, fordi det gjør dem i stand til å utnytte et relativt trygt miljø i ferskvann for reproduksjon og oppvekst, mens «ungdomstiden» i havet tillater dem å livnære seg på en rik forsyning av fisk og andre marine organismer. Smoltifisering representerer derfor et av de viktigste vendepunktene i den anadrome livs-syklusen til atlantisk laks da den må omstille seg fra et liv i ferskvann til et liv i det marine miljøet.

## 10.2 DE BIOLOGISKE PROSESSENE UNDER SMOLTIFISERING

Smoltifisering, den såkalte parr-smolt transformasjonen, er en kompleks tilpasningsprosess drevet av endokrine systemer bestående av flere uavhengige men koordinerte utviklingsendringer i biokjemi, fysiologi, morfologi og atferd til yngelen. Disse endringene har en høy energikostnad for dyret, og sammenfaller med et redusert immunsystem. Denne prosessen forbereder imidlertid fisken for en overgang til en marin livsstil. Viktige drivkrefter i parr-smolt-transformasjonen er **a)** miljøsignaler (fotoperiode og temperatur); **b)** hormonell kontroll, **c)** atferdsmessige endringer og **d)** fysiologiske endringer i osmoreguleringen som gjør at smoltene kan trives og overleve i hyperosmotiske (marine) miljøer (**figur 10.1**). En mer detaljert beskrivelse av prosessene innen ione- og osmoregulering er beskrevet i kapittel 9 i denne boken.



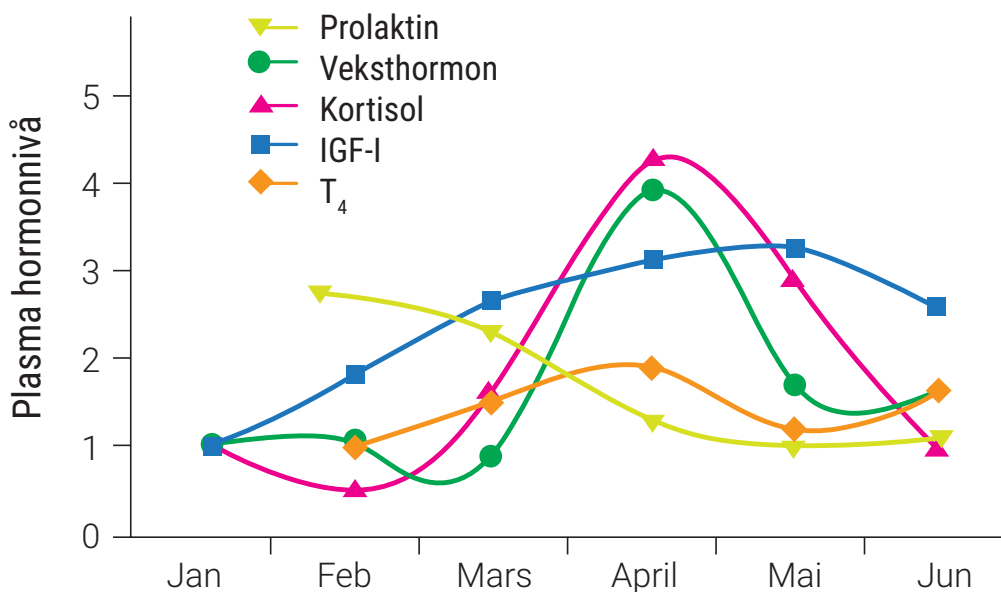
**Figur 10.1.** Skjematiske oversikt over hvordan man tenker at «naturlig smoltifisering» foregår. Lakseparren må nå en viss størrelse (>10 cm) som gjør den mottagelig for endringer i fotoperioden. Normalt er dette vintersignal (korte dager) etterfulgt av vår (lange dager). Dette vil igangsette og synkronisere ulike uavhengige interne biorytmer slik at de blir koordinert og optimalisert for et liv i det marine miljø (parr til smolt). Alt dette skjer i ferskvann lenge før fisken begynner nedvandringen til havet. I det molten går ut i havet er prosessen fullført og postsmoltfasen til laksen starter (Jakobsen 2013).

### 10.3 MILJØSIGNALER

Fotoperiode og sesongmessige temperatursvingninger er to viktige miljøsignaler som fungerer sammen til å omdanne den atlantiske lakseparren til smolt. På den nordlige halvkulen, skjer smoltifisering av laksen om våren, når en stigende temperatur på 8-10 °C igangsetter smoltvandringen til havet. Mekanismene som tolker fotoperiodisk informasjon og omdanner dette til en neuroendokrin respons i benfisk er ikke fullstendig forstått. Forsøk med varierende fotoperioder (kort- og langdageeksponering) gir stor variasjon i gjellenes  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$  (NKA)-aktivitet og gennuttrykksmønstre i ionocytene som regulerer ionebalansen mot sjøvann (se kapittel 9). En del av disse signalene kommer fra corpus pineale (pinealkjertelen) som er en dorsal epifysestruktur og utvekst fra diencephalon (se kapittel 2), Den ligger nært opp mot skalletaket og stimuleres i laksefisk direkte gjennom hodeskallen og kalles gjerne «det tredje øyet». Pinealkjertelen påvirkes av at lyset skiller ut melatonin ved lav lysintensitet mens sekresjonen slås av i dagslys. Slik kan fisken orientere seg om endringer i daglengden, og vite nøyaktig hvilken tid på året det er. Fisk absorberer i snitt mellom 1 til 8 % av simulert dagslys i hodeskallen avhengig av art, i tillegg synes lange bølgelengder (650-700 nm) å være mer effektive i å penetrere skallen enn korte bølgelengder (400-450 nm). Terskelverdien for lysinhibert melatoninproduksjon synes hos laks å ligge rundt  $3,8 \times 10^{-4}$  til  $3,8 \times 10^{-5} \text{ W/m}^2$  (ca.  $7,4 \times 10^{-4} \mu\text{mol/s/m}^2$  til  $7,4 \times 10^{-5} \mu\text{mol/s/m}^2$ ). Typisk også er at lakseparr er mer lyssensitiv enn laksesmolt. Dette skyldes av at i smoltifiserende laks skjer det en fortykkelse og melanisering av skalletaket som reduserer lysgjennomtrengingen. Også forhøyet temperatur øker melatoninsekresjonen, og pinealkjertelen i laks synes å kunne fungere både som en fotoperiode- og temperatursensor.

### 10.4 HORMONELL KONTROLL

Parr-smolt transformasjonen engasjerer flere uavhengige endokrine systemer (se figur 10.1 og 10.2). Lakseparr som har passert 10 cm i voksesesongen ser ut til å kunne utvikle seg til en smolt den kommende sesongen. Etter at laksen har nådd denne terskelstørrelsen stimulerer fotoperioden (overgang fra vinter til vår) pinal-hypofyse-aksen som resulterer i en økning av veksthormon (GH), insulinlignende vekstfaktorer (IGF-1 og IGF-2), kortisol og skjoldbruskskjertelhormonene ( $T_3$  og  $T_4$ ) (se også kapittel 5). I tillegg til GH sine vekstrelaterte effekter, stimulerer GH også somatomedin-aktiviteten i leveren slik som IGF-1 og IGF-2. GH og kortisol samhandler for å kontrollere utviklingen av hypo-osmoregulatoriske mekanismer i gjeller, tarm og nyrer. Dette fremmer økt saltholdighetstoleranse og endringer i vekst (vekt til lengdeforhold, dvs. redusert kondisjonsfaktor). Tyreoidhormonene ( $T_3$  og  $T_4$ ) fra skjoldbruskskjertelen synes å være viktige for gjenkjenning av fødeelven (luktastrykk), metabolisme, morfologiske endringer som sølvfarging, og muligens utvikling av stimatferd. Forsøk har vist at plasma tyroksin ( $T_4$ ) øker etter at smolten er satt ut i sjø, og hos vill-smolt som migrasjon til havet. Plasma  $T_4$  øker også under eksponering av vann med ulike vannkvaliteter, og ved overgangen til brakkevann. Prolaktin, derimot synes å være viktig for parrens hyper-osmoregulatoriske kapasitet i ferskvann. I det parr-smolt-transformasjonen er fullbyrdet avtar produksjon av prolaktin, og stanser opp når smolten vandrer ut i sjøvann.



**Figur 10.2.** Hormonelle endringer under parr-smolt transformasjonen (overgang fra ferskvann til sjøvann) hos atlantisk laks (etter Hoar 1988).

### 10.5 ATFERDSMESSIGE ENDRINGER

Laksen sin parr-smolt transformasjon kan forenklet sees på som laksens pubertet. Det er voldsomme endringer i utseende og oppførsel som skjer i løpet av relativ kort tid. Den typiske parren er grønn/brunaktig, «småkorpulent» med høy K-faktor, har vertikale bånd og parrmerker og sorte/røde prikker. I tillegg er den stasjonær, territoriell og bunnlevende som står mot strømmen (positiv reotaksisk). Smolten er derimot slank, blå/sølvaktig og en stimfisk som svømmer med strømmen (negativ reotaksisk), klar for et liv i havet (figur 10.3).

**Figur 10.3.** Parr-smolt-transformasjonen. Øverst ser man en typisk lakseparr med tydelige parrmerker (såkalte «fingertrykkmerker»). Typisk for en lakseparr er en høy kondisjonsfaktor over 1. I midten en oppdrettssmolt som også vanligvis har en kondisjonsfaktor over 1. Nederst ser man en typisk vill laksesmolt fra Altaelva med en kondisjonsfaktor under 1. Karakteristisk for laksesmolt er den klassiske havkamufllasjonen som er blå/sølvaktig.



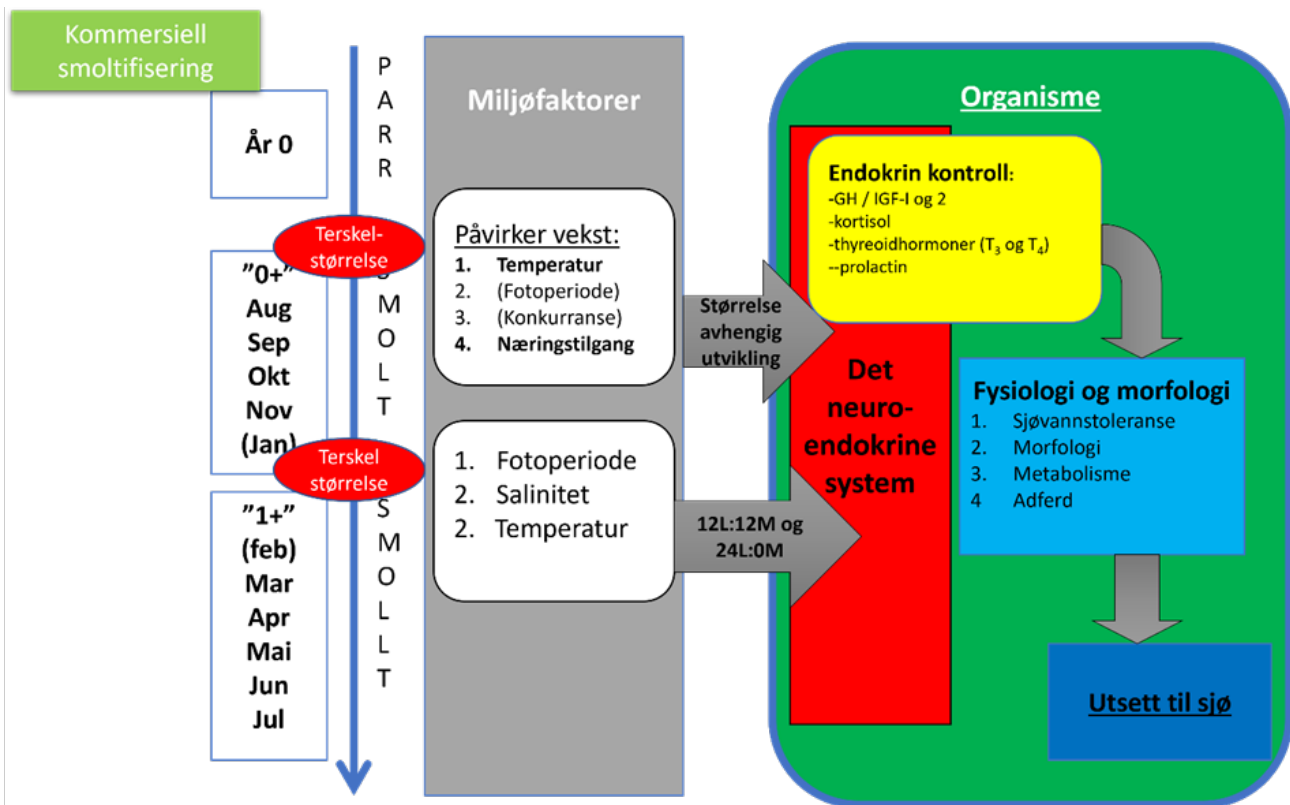
## 10.6 FYSIOLOGISKE ENDRINGER

Som nevnt ovenfor begynner laksefisken sin livssyklus i ferskvann, hvor den er hyperosmotisk (høyre osmotisk konsentrasjon enn miljøet den lever i) til det ytre miljø. Det osmotiske trykket favoriserer vanninntrengning inn i kroppen og tap av salter ved diffusjon over gjellene. For å kompensere for denne passive strømmen av vann og ioner, eliminerer fisken overflødig vann som fortennet urin, og henter salt fra mat i tarmen og ved aktivt opptak av salter over gjellene. Idet laksen beveger seg inn i sjøvann blir den osmotiske gradienten reversert, og den blir hypoosmotisk (lavere osmotisk konsentrasjon enn miljøet den lever i) i forhold til det ytre miljøet. Laksen mister vann, og får salter ved passiv diffusjon. For å motvirke dette må fisken drikke sjøvann, redusere dens urinproduksjon, og aktivt utskille salter over gjellene gjennom spesialiserte celler kalt ionocytter, mitokondrionrike (MR) celler eller kloridceller. For mer detaljert beskrivelse av hvordan dette foregår henvises det til kapittel 2, 9 og 11 for detaljer om mekanismer.

## 10.7 «SMOLTVINDET OG DESMOLTIFISERING»

I industriell lakseproduksjon er overlevelse og vekst i sjøvann de to viktigste manifestasjonene på smoltifisering. Men hvis smolten hindres fra å nå sjøvann vil flere av de preadaptive endringene knyttet til forberedelse til et liv i havet bli reversert, en prosess kjent som desmoltifisering. Denne naturlige reverseringen lukker «smoltvinduet» hvor smolten er klar for sjøvann. I enkelte tilfeller har man observert dødelighet under denne reverseringen siden fisken har tømt seg for salter i ferskvann. Begrepsmessig er «smoltvinduet» en periode da de fysiologiske forholdene er gunstige for overføring til sjøvann, og i kommersiell sammenheng ofte assosiert med økt  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase aktivitet. **Figur 10.4** viser hvordan man bruker kunnskapen fra naturen til å gjøre en parr klar for utsetting i sjøen. Selv om man ennå deler dette inn i kategorien 0+ (0 år, høst) og 1+

(1 åring, vår) produksjon ser man at det i de fleste anlegg nå kan produseres settefisk året rundt. Noen bruker lysstyring med en vinterperiode på 4-6 uker med 12 timer lys og 12 timer mørke (12L:12M) etterfulgt av kontinuerlig lys (24L:0M). Etter ca. 380 til 420 døgngrader (d°C) har man utviklet en smolt. Etter at RAS-teknologien kom for fullt inn i settefiskproduksjonen benytter man seg ofte av såkalt vekstindusert smolt uten noe lyssignal. Enkelte anlegg bruker også sakte økning i saliniteten (0 til 20 ‰) som verktøy for å gjøre parren klar til overgangen til sjøvann. Disse produksjonene gir ikke en fullverdig smolt i ordets rette betydning, siden hverken økt temperatur eller salinitet gir et synkroniseringssignal som starter smoltifiseringsprosessen og samkjører prosessene som beskrevet ovenfor. **Figur 10.5** viser den morfologiske spredningen man kan finne i settefiskanlegg med manglende synkronisering av smoltifiseringen. «Smoltvinduet» varighet er i området 300-400 (d°C), og med stor spredning i smoltutviklingen spesielt i store produksjonsheter kan man risikere at fisken i det øvre vannlaget (utviklet smolt) er i ferd med å desmoltifisere i det fisken på bunnen i samme i kar smoltifiserer. Man mistenker at mye av dødeligheten en ser i overgangen til sjø skyldes dårlig smoltkvalitet forårsaket av ufullstendig smoltifisering. En «zeitgeber» som lys, og sekundær temperatur, er derfor svært viktig for å gi en fullstendig synkroniseringsprosess for smoltifiseringen. En generell beskrivelse av smoltifiseringsprosessen hos andre laksearter er beskrevet i kapittel 21.



**10.4.** Skjematisk oversikt over hvordan kommersiell smoltproduksjon foregår. Lakseparr må nå en viss størrelse slik at den kan «tåle» sjøvann, ofte kalt sjøvannsdyktig settefisk. I denne prosessen kan man benytte lysstyring (12L:12M etterfulgt av 24L:0M). Settefisk med RAS-teknologi bruker ofte vekstindusert «smoltifisering» med økende salinitet for å gjøre fisken klar til utsetting i sjø (etter Jakobsen 2013).

**Figur 10.5.** Spredningen i utseende til settefisk produsert ved høy ferskvannstemperatur ved hjelp av RAS –teknologi uten lysstyring –dvs. ved manglende synkronisering av lysstyringen.



### 10.8 SJØVANNSTESTING AV SMOLT

I en standard sjøvannstest overføres et gitt antall laksesmolt fra ferskvann til sjøvann og gis en eksponeringstid på 24 til 48 timer i sjøvann under en temperatur i området 8-12 grader og en salinitet på 34 promille sjøvann. Fisken skal stå i ro i eksponeringstiden med 24 timer lys og uten føring. Etter 24 til 48 timer i sjøvann tas det prøver av fisken og eventuell død fisk registreres med lengde og vekt. Denne testen kan tas enten i et kar med stillestående sjøvann og oksygenering eller i et gjennomstrømmingskar. Blodprøves tas oftest med sprøyter som er innsatt med et antikoagulasjonsmiddel (heparin, EDTA eller lignende) slik at man raskt kan lage plasma. Normalt tas det blodprøver av 8 fisk i ferskvann i forkant av sjøvannstesten for å ha et mål på ferskvannsverdiene. Etter 24 til 48 timer håves fisken (10 stk) over i ei bønne med bedøvelsesløsning med riktig saltholdighet og straks fisken ikke viser tegn til respons på berøring håves den opp, gis et slag i hodet og legges over på en plastbakke dekket med papir. Blodprøver tas ved å plasser nålen 3 skjell under sidelinjen, på en linje mellom fremkant av fettfinne og fremkant av gattfinne (**figur 10.6**).

**Figur 10.6.** Blodprøvetaging av smolt med sprøyte og vakuteiner.



Nålen stikkes lett og forsiktig inn mot ryggspylen til den aner litt motstand når den treffer hemalbuen, gis et ørlite sug på nåla og stemplet i sprøyta trekkes litt tilbake. Blodet vil normalt strømme inn i sprøyta når blodåren treffes. Vanlig mengde blod er fra 0,2-0,5 ml. Prøvene overføres til Eppendorfrør og settes i direkte i sentrifugen eller i holdere i samme rekkefølge som fisken ble lagt opp. Dersom prøvene ikke analyseres umiddelbart, kan de settes til kort tids oppbevaring i kjøleskapet eller på is. For lengre tids oppbevaring lukkes prøverørene, merkes med prøvenummer, overføres til en plastpose som merkes med dato, og fryses ned. Verdier for klorid i blodplasma fra normal smolt i ferskvann er fra 110 – 130 mM mens de vil være 135 - 150 mM etter en sjøvannstest. Fisk som ikke er smoltifisert vil ha kloridverdier på opp mot 180 mM. Verdier for plasmaosmolalitet vil være 310-330 mOsm for smolt i ferskvann og 330-350 mOsm etter en sjøvannstest. Fisk som ikke er smoltifisert tilfredsstillende kan ha verdier opp mot 400 mOsm.

Det har vært kjent en stund at gjelle-NKA-aktiviteten hos smolt øker parallelt med utviklingen av sjøvannstoleranse. Denne positive sammenhengen har ført til utviklingen av en alternativ metode for å vurdere smoltutviklingen og sjøvannstoleranse hos laks. Hos regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*) finnes det flere isoformer av den katalytiske  $\alpha$ -subenheten til NKA som er til stede i gjellen, og to av disse er differensielt regulert av saltholdighet. Atlantisk laks har to store NKA $\alpha$  isoformer i distinkte ionocytter i gjellen: NKA $\alpha$ 1a som er mest uttrykt i ferskvann, mens NKA $\alpha$ 1b dominerer i sjøvann. Gjelle mRNA-nivåene av NKA $\alpha$ 1b øker i løpet av smoltifiseringen hos atlantisk laks, mens uttrykket av NKA $\alpha$ 1a mRNA avtar. Det tilbys i dag flere kommersielle analyser som baserer seg på uttrykket av NKA $\alpha$  isoformene for å dokumentere sjøvannstoleransen til laks. Det bør understrekes at disse ikke gir en fullgod dokumentasjon av smoltutviklingen, og bør kombineres med «klassiske sjøvannstester». Sammen vil disse metodene kunne gi et godt bilde på smoltutviklingen.

## 10.9 UTFORDRINGER

I den senere tid har fenomenet hemoragisk smoltsyndrom (HSS) blitt påvist i settefiskanlegg. Dette er en sykdom som gir blødninger og anemi (blodfattig). Dette kan inntreffe på smolt som er klar til overføring til sjø, men også i noen tilfeller på yngel. Mest sannsynlig skyldes dette laks som er i ferd med å desmoltifisere, da overføring til sjø synes å stoppe videre utvikling av HSS. Det har også vist seg at fôr med salttilsetning eller økning i saliniteten kan bremse utviklingen av HSS. Spesielt bør man være oppmerksom på at flere tidligere studier på smolt og postsmolt av atlantisk laks har vist at smolt har en svekket immunitet. Redusert plasma lysozym-, IgM-nivåer og leukocyttnivåer har blitt observert. I tillegg har man begynt å se sammenheng mellom økningen i smittsomme sykdommer som oppstår etter overføring til sjøvann med en endring i immunresponsen under smoltifisering. Postsmolt har vist en svak respons mot virale sykdommer, samt deres hudbarriere mot infeksjon, og deres tarm-immunfunksjoner er svake i første del av postsmolt perioden. Velferdsmessig bør man stille noen kritisk spørsmål om manglende bruk av styring av smoltifiseringsprosessen i kommersiell lakseproduksjon. Man bør gi dyrene en mulighet til å forberede seg til et liv i sjøen. Villaks dør ikke av osmoregulatoriske problemer etter utvandring, noe vår oppdrettslaks kan gjøre i perioder.



## 10. 10 LITTERATUR

### 10.10.1 Anbefalt litteratur

Björnsson BT, Stefansson SO and McCormick SD 2010. Environmental endocrinology of salmon smoltification. *Gen Comp Endocrinol* 170, 290. [doi/10.1016/j.ygcen.2010.07.003](https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.07.003).

Björnsson BT, Einarsdottir IE and Power D 2011. Is salmon smoltification an example of vertebrate metamorphosis? Lessons learnt from work on flatfish larval development. *Aquaculture* 362-363, 264. [doi/10.1016/j.aquaculture.2011.03.002](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.03.002)

Boeuf G. 1994. Salmonid smolting: a pre-adaptation to oceanic environment. In *Fish Ecophysiology*. Rankin, GC and Jenson GB (eds.) pp. 105–135. London: Chapman & Hall. ISBN 978-0-412-45920-7

McCormick SD 2013. Smolt Physiology and Endocrinology. In: *Euryhaline Fishes*. McCormick SD, Farrell AP and Brauner CJ (eds.), pp. 199-251. USA: Academic Press. ISBN: 978-0-12-396951-4

Morro B, Balseiro P, Albalat A, Pedrosa C, Mackenzie S, Nakamura S, Shimizu M, Nilsen TO, Sveier H, Ebbesson LO and Handeland SO. 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. [doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.039](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.039)

Striberny A, Lauritzen DE, Fuentes J, Campinho MA, Gaetano P, Duarte V, Hazlerigg DG and Jørgensen EH. 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.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736044](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736044)

Thorstad EB, Whoriskey F, Uglem I, Moore A, Rikardsen A and Finstad B. 2012. A critical life stage of the Atlantic salmon *Salmo salar*: behavior and survival during the smolt and initial post-smolt migration. *J Fish Biol* 81, 500. [doi.org/10.1111/j.1095-8649.2012.03370.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2012.03370.x)

Ugedal O, Kroglund F, Barlaup B. og Lamberg A 2014. Smolt – en kunnskapsoppsummering. Miljødirektoratet M136-2014: 128 sider.

### 10.10.2 Referanser til figurer og tabeller

Hoar WS 1988. The physiology of smolting salmonids. In *Fish Physiology*, Vol. XIB. Hoar WS and Randall DJ (eds.), pp. 275–343. New York, NY: Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(08\)60216-2](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)60216-2)

Jakobsen R 2013. Smoltifisering hos atlantisk laks (*Salmo salar* L): Betydningen av stress, temperatur og akklimering. Masteroppgave Nord Universitet. 57s.

Ærø CR 2018. Kontinuerlig lysstimuli og sjøvannsbruk i intensiv smoltproduksjon: smoltifiseringsutvikling hos atlantisk laks (*Salmo salar*). Masteroppgave Nord Universitet. 76s.

**ILLUSTRASJONER OG FIGURER.**

Følgende har bidratt med figurer eller bilder til kapittel 10. Bidragsyterne beholder sine eventuelle copyrightrettigheter uten forkortelse.

Roar Jakobsen: 10.1, 10.4

Knut Gangåssæter-Doghouse: 10.2

Bengt Finstad: 10.3, 10.6

Carl Ruben Ærø: 10.5