

**Effektar av oksygenovermetting og total gassovermetting
på vekst, helse og mottakelegheit for klassisk vibriose
hjá juvenil torsk (*Gadus morhua*)**



Mastergradsoppgåve (60 stp) i fiskehelse

av

Hege Lysne



Institutt for marin bioteknologi

Norges fiskerihøgskole

Universitetet i Tromsø

Februar 2007

Forord

Det tok litt tid, men det ordna seg visst til slutt...

Først og fremst vil eg takka rettleiarane mine, seniorforskar Hilde Toften ved Fiskeriforskning og Jan-Eirik Angell Killie ved Norges fiskerihøgskole, som har synt stor tolmod og ikkje mista trua på meg undervegs!

Tidlegare medstudent, no Master i akvakultur, Kathrine Ryvold Arnesen, skal ha ein stor takk for knallgodt samarbeide under gjennomføringa av forsøket, og for mange gode tips i skriveprosessen. Lukke til i mammarollen, Kathrine!

Susanna Børdal, også tidlegare medstudent, skal også ha ein stor takk for god hjelp med smittedelen av forsøket!

Takk til dei tilsette ved Havbruksstasjonen i Tromsø for all hjelp under gjennomføringa av forsøket, og for å vera ein knakande fin gjeng å jobba ilag med!

Takk til Fiskeriforskning, senter for Havbruk, for at de stilte opp med kontorplass til meg, og for den fantastiske lunsjen. Den er sårt sakna...

Chilegjengen og alle andre medstudentar: takk for at de bidrog til mange flotte år på Norges fiskerihøgskole!

Til sist ein takk til mamma, pappa, Arild og Åshild heime i Lærdal, for å ha lagt grunnlaget for at det vart folk av meg og ☺

Tromsø, februar 2007

Hege Lysne

Samandrag

Fisk som oppheld seg i gassovermetta vatn kan utvikla gassblæresykje. I landbasert oppdrett er problemet ofte overmetting av nitrogen. Ved bruk av oksygeneringsanlegg der oksyngassen ikkje erstattar nitrogen, kan hyperbarisk oksygenovermetting oppstå. Det vil seia at både oksygenmettinga og den totale gassmettinga i vatnet overstig 100 %. I slike tilfelle kan oksyngassen forårsaka gassblæresykje.

Andre skadelege effektar høge oksygenverdiar kan ha på fisk er forstyrrelsar i den fysiologiske syre/basebalansen og auka danning av reaktive oksygenforbindelsar. Dette kan oppstå uavhengig av det totale gasstrykket i vatnet.

I dette forsøket vart torsk i setjefiskstørrelse (39 gram ved forsøksstart) utsett for tre ulike nivå av hyperbarisk oksygenovermetting:

- 173 % O₂ / 115 % totalmetting
- 145 % O₂ / 109 % totalmetting
- 118 % O₂ / 105 % totalmetting

Som kontroll vart ei gruppe utsett for ikkje-oksygenert vatn, med om lag 76 % O₂ og 97 % totalmetting. Varigheita av eksponeringa var om lag seks veker. Oksygenivået vart overvaka av eit automatisk måleanlegg og loggført tre gonger per døgn. Temperatur vart målt dagleg. Total gassmetting og ei rekkje andre vasskvalitetsparametrar vart målt manuelt tre-fire gonger i løpet av eksponeringsperioden. Fisken vart fôra i overskot, og lengde og vekt registrert før og etter oksygeneksponeringa. Blodprøvar vart teke av eit utval fisk før, under og etter oksygeneksponeringa.

Gruppa som vart utsett for 173 % O₂ og 115 % totalmetting nådde nesten 100 % dødelegheit i løpet av 3 dagar. På enkelte individ i denne gruppa vart det observert gassblærer i finner og hud. Dødsårsaka var sannsynlegvis akutt gassblæresykje, der bobler av gass truleg har forårsaka stans i blodomløpet. Det kan imidlertid ikkje utelukkast at den høge oksygenmettinga i seg sjølv har medverka til dødelegheita. I gruppa som vart eksponert for 145 % O₂ og 109 % totalmetting vart det observert gassblærer i finner og hud både på død og levande fisk. Skader på augo vart også observert. I denne gruppa var dødelegheita 8,3 % gjennom dei seks vekene med oksygeneksponering. Gassblærer vart funnen på all dødfisk.

I kontrollgruppa og 118 % O₂-gruppa vart det ikkje observert nokon symptom på gassblæresykje. Dette tyder på at toleransegrensa for gassovermetting hjå juvenil torsk ligg ein stad mellom 105 – 109 % totalgassmetting når overmettinga skuldast oksygen.

Fisken i 118 % O₂-gruppa hadde best vekst gjennom forsøket. 145 % O₂-gruppa hadde også noko betre vekst enn kontrollgruppa. Fisk i 145 % O₂-gruppa som hadde symptom på gassblæresykje hadde signifikant lågare vekstrate enn fisk i den samme gruppa utan synlege symptom.

Umiddelbart etter avslutta oksygeneksponering vart overlevande fisk overført til smittelaboratorium. Halvparten av fisken i kvar gruppe vart smitta med *Listonella anguillarum* (tidlegare *Vibrio anguillarum*), bakterien som forårsakar klassisk vibriose. Resten av fisken vart haldne under samme betingelsar som smittegruppa, bortsett frå bakteriesmitta. Smitteforsøket føregjekk ved om lag 76 % O₂-metting. Ved avslutning av smitteforsøket vart lengde og vekt målt på all overlevande fisk. Fisken var individmerka og kvart individ kunne dermed følgjast gjennom forsøket.

Det vart ikkje påvist nokon forskjell i dødelegheit mellom behandlingsgruppene etter smitte med *L. anguillarum*. I alle gruppene nådde dødelegheita om lag 80 %, og dødelegheitsforløpet var tilnærma likt. Dette tyder på at forutgåande eksponering for hyperbarisk oksygenovermetting ikkje påverkar mottakelegheita for klassisk vibriose hjå juvenil torsk.

Hjå fisken som ikkje vart smitta var det etter overføring til vatn med 76 % O₂ ingen signifikant forskjell i vekstrate mellom gruppene. Innad i 145 % O₂-gruppa var det heller ingen signifikant forskjell i vekstrate mellom fisk som under oksygeneksponeringa synte teikn på gassblæresykje og fisk som ikkje synte slike symptom. Omfanget av gassblærer i finner og hud såg ut til å kraftig tilbake etter overføring til vatn med 76 % O₂.

Innholdsliste

1	Innleiing	9
2	Materiale og metode	13
2.1	Forsøksdesign	13
2.1.1	Forsøksfisken	14
2.1.2	Forsøksfasilitetar i eksponeringsperioden	15
2.2	Oksygenbehandlinga (eksponeringsperioden)	18
2.2.1	Registrering av vasskvalitet	19
2.2.2	Fysiologiske og morfologiske målingar	20
2.3	Smitteforsøket	23
2.3.1	Overføring av fisk til FHL	23
2.3.2	Dyrking av bakteriar	24
2.3.3	Presmitte	25
2.3.4	Smitte av fisken i hovudforsøket	26
2.4	Utrekningar	27
2.4.1	Vekstrate	27
2.4.2	Kondisjonsfaktor	27
2.4.3	Fôrintaksmålingar	27
2.4.4	Gassmetting i vatnet	28
2.5	Databehandling og statistikk	29
2.5.1	Dataverktøy	29
2.5.2	Datagrunnlag	29
2.5.3	Statistisk analyse av resultata	29
3	Resultat	31
3.1	Vasskvalitet i eksponeringsperioden	31
3.1.1	Oksygenmetting og temperatur	31
3.1.2	Gassmetting i vatnet	33
3.1.3	Vassanalyse	33
3.2	Dødelegheit i eksponeringsperioden	35
3.2.1	Ytre kliniske teikn på gassovermetting	36
3.2.2	Andre observasjonar i eksponeringsperioden	40
3.3	Vekst	41
3.3.1	Lengde- og vektutvikling	41

3.3.2	Spesifikk vekstrate	43
3.3.3	Kondisjonsfaktor	44
3.3.4	Størrelsesforskjell mellom død og overlevande fisk	45
3.3.5	Samanlikning av vekstrate innad i 145 % O ₂ -gruppa	46
3.4	Fôrinntak i eksponeringsperioden	47
3.5	Blodverdiar	49
3.5.1	Kjønn og modning	49
3.6	Smitte med <i>Listonella anguillarum</i>	51
3.6.1	Presmitteforsøk	51
3.6.2	Dødelegheit i presmitteforsøket	51
3.6.3	Smitte av behandlingsgrupper	53
3.6.4	Dødelegheit i smitteforsøket	53
3.6.5	Vasskvalitet under smitteforsøket	54
3.6.6	Størrelsesforskjell mellom død og overlevande fisk	55
3.6.7	Samanlikning av dødelegheit etter smitte innad i 145 % O ₂ -gruppa	56
4	Diskusjon	57
4.1	Drøfting av forsøksbetingelsar	57
4.2	Drøfting av resultat	59
4.2.1	Vekst i og etter eksponeringsperioden	59
4.2.2	Helse og fysiologi eksponeringsperioden	60
4.2.3	Smitteforsøk med <i>Listonella anguillarum</i>	64
4.2.4	Velferd	66
5	Konklusjonar	67
6	Referansar	69
7	Vedlegg	73
7.1	Forklaring til forkortingar brukt i oppgåva	73
7.2	Framgangsmåte for uttak av vassprøvar til NIVA	75
7.3	Oppskrift på Marine Broth (MB)	77
7.4	Metode for påvising av <i>L. anguillarum</i> på torsk	79
7.5	Tukey-Kramer testar av data	81
7.5.1	Vekstdata	81
7.5.2	Blodverdiar	85

1 Innleiing

Torsk (*Gadus morhua*) er ein av dei vanlegaste og økonomisk viktigaste saltvassfiskane i våre farvatn. Gjennom fleire århundre har villfanga torsk vore ein av Norges viktigaste eksportartiklar. I dei seinare åra har også oppdrett av torsk blitt ei næring å rekna med. Torsk er no den tredje viktigaste oppdrettsarten i Norge målt i mengde (etter laks og ørret).

Fisk i oppdrett opplever eit miljø som på mange måtar kan avvika frå det naturlege og påføra fisken stress. Stress kan medføra nedsett vekst og immunforsvar (Wedemeyer, 1996).

Suboptimal vasskvalitet er ein slik stressfaktor. Setjefiskproduksjon av torsk i Norge foregår som oftast intensivt i kar på land. I landbaserte oppdrettsanlegg har oppdrettaren mulighet til å overvaka og regulera mange vasskvalitetsparametrar for å optimalisera og styra produksjonen. Samstundes er fisken prisgitt den vasskvaliteten oppdrettaren tilbyr. Sidan torsk er ein relativt ny art i oppdrett er kunnskapen omkring vasskvalitet i torskeoppdrett mangelfull. Det er mange ting som avgjer kva effekt eit gitt nivå av ein vasskvalitetsparameter har på fisken, til dømes art, størrelse, kjønn, og generell fysiologisk tilstand (Wedemeyer, 1997). Kunnskap om andre artar kan derfor ikkje utan vidare overførast til torsk.

Ein sentral vasskvalitetsparameter i fiskeoppdrett er innhaldet av løyst oksygen i vatnet. Fisk er avhengige av oksygen for å leva, slik alle høgareståande organismar er. For lågt oksygeninnhald i vatnet kan mellom anna medføra redusert fôropptak og vekst, respiratorisk stress, tap av medvite og i verste fall død for fisken (Wedemeyer, 1996). For ein oppdrettar er det sjølvstøtt ønskjeleg å ha god vekst, god kvalitet og lite dødelegheit på fisken. Samstundes vil oppdrettaren gjerne halda energikostnader til pumping, oppvarming og anna vassbehandling lågast mulig. Ein måte å auka produksjonskapasiteten i anlegget på er å tilsetja oksygen til vatnet (oksygenering). Då kan oppdrettaren anten halda meir fisk i anlegget utan å auka vassforbruket (fisketettheita vert auka), han kan produsera samme mengde fisk med mindre mengde vatn, eller han kan resirkulera vatnet.

Sjølv om oksygen er livsnødvendig for alle høgareståande organismar, kan det imidlertid også ha skadelege verknader. Reaktive oksygenforbindelsar som vert danna i oksygenmetabolismen kan skada celler og organiske molekyl. Aerobe organismar har utvikla

enzymatiske forsvarssystem mot desse forbindelsane, men svært høge oksygennivå kan overvinna desse (Colt *et.al*, 1991). Høge oksygenverdiar medfører også forhøga karbondioksidnivå i blodet (hypercapnia) på grunn av reduksjon i respirasjonsfrekvensen og auke i den metabolske produksjonen av karbondioksid (Wedemeyer, 1997), noko som kan medføra forstyrningar i den fysiologiske syre/base-balansen.

Tilsetjing av oksygen kan også medføra at vatnet blir overmetta av gassar. Forhøga oksygennivå der den totale gassmettinga i vatnet er større enn atmosfæretrykket (totalgassmetting > 100 %) kallast hyperbarisk hyperoksi, i motsetnad til normbarisk hyperoksi, som er forhøga oksygenmetting ved atmosfærisk trykk (totalgassmetting = ca 100 %) (Colt *et.al*, 1991). Det er viktig å skilja mellom desse, fordi førstnemnde situasjon, hyperbarisk hyperoksi, medfører ytterlegare ei problemstilling: total gassovermetting. Fisk og andre akvatiske organismar som oppheld seg i vatn som er overmetta av gassar kan utvikla gassblæresykje (Weitkamp & Katz, 1980). Gassblæresykje kan forårsaka skader på fisken ved at gassbobler dannast i blod eller vev hjå fisken, eller i verste fall død dersom gassboblene blir så store at blodgjennomstrøyminga vert blokkert (Bouck, 1980). I landbaserte oppdrettsanlegg er pumper og røyr som sug luft og oppvarming av vatn dei vanlegaste årsakene til gassovermetting. I slike tilfelle vil det som regel vera nitrogen, og ikkje oksygen, som eventuelt forårsakar gassblæresykje. Nitrogenovermetting er som regel eit langt større problem for fisken si helse enn oksygenovermetting (Wedemeyer, 1996). Dette er fordi nitrogen er ein biologisk inert gass, medan oksygenet vert forbrukt i fisken sin metabolisme. Det føreligg imidlertid fleire rapportar som indikerer at oksygen åleine kan forårsaka gassblæresykje hjå fisk (Weitkamp & Katz, 1980).

Forsøk på laksesmolt viser at suboptimal vasskvalitet i ferskvassfasen på land gjer fisken meir mottakeleg for IPN (infeksiøs pankreasnekrose) etter overføring til sjøvatn (Stefansson *et.al*, 2006). Høgast risiko for IPN var forbunde med høg fisketettheit, lågt vassforbruk og variable høge oksygenverdiar. Det ville derfor vera interessant å undersøkje om noko liknande er tilfelle for torskeyngel utsett for høge oksygenverdiar. Den alvorlegaste sjukdommen i norsk torskeoppdrett per i dag er klassisk vibriose. Dette er ein typisk stress-mediert sjukdom (Wedemeyer, 1997). Sjukdommen er forårsaka av bakterien *Listonella anguillarum* (tidlegare kjent under namnet *Vibrio anguillarum*). Dette er ein fakultativ patogen bakterie som er vidt utbreidd i det marine miljø. Den kan forårsaka sjukdom på mange fiskeartar, inkludert torsk.

Det er etablert ein smittemodell for vibriose på torsk som gjorde det mulig å gjennomføra eit smitteforsøk med *L. anguillarum* på torsk.

I seinare tid har det blitt fokusert stadig meir på dyrevern og dyrevelferd, også når det gjeld fisk. Forbrukaren etterspør i aukande grad matvarer som er produsert utan å påføra dyra unødvendig lidning. Velferd for oppdrettsfisk er tydeleg vektlagt i Stortingsmelding nr. 12 (2002-2003) "Om dyrehold og dyrevelferd", og nr. 19 (2004-2005) "Marin næringsutvikling. Den blå åker". Dyrevernlova av 1974 har lenge inkludert fisk. Ny dyrevernlov er no under utarbeiding, og i den nye lova vil dyrevelferd (og dermed også fiskevelferd) truleg bli langt sterkare vektlagt enn det er i den eksisterande. Velferd er eit noko abstrakt begrep, særleg på fisk som er så ulike oss menneske. Det kan derfor vera vanskeleg å måla om fisken har det bra. Reduksjon i vekst, sjukdomsmotstand og overlevelse er imidlertid teikn som må kunna tolkast som at fisken opplever redusert velferd.

Måla med dette forsøket var å:

- Undersøkja kva effekt ulike nivå av hyperbarisk oksygenovermetting har på vekst, helse og fysiologi hjå juvenil torsk
- Undersøkja om forutgåande eksponering for hyperbarisk oksygenovermetting innverkar på mottakelegheit for klassisk vibriose hjå juvenil torsk
- Gje ei vurdering av kva innverknad hyperbarisk oksygenovermetting har på fiskevelferda

Under det første punktet var det først og fremst problematikken knytta til syre/basebalanse og total gassovermetting som vart undersøkt i dette forsøket. Problemstillingar kring danning av reaktive oksygenforbindelsar vart undersøkt av Olsvik *et.al* (2006), som brukte fisk frå dette forsøket i sitt prøvemateriale.

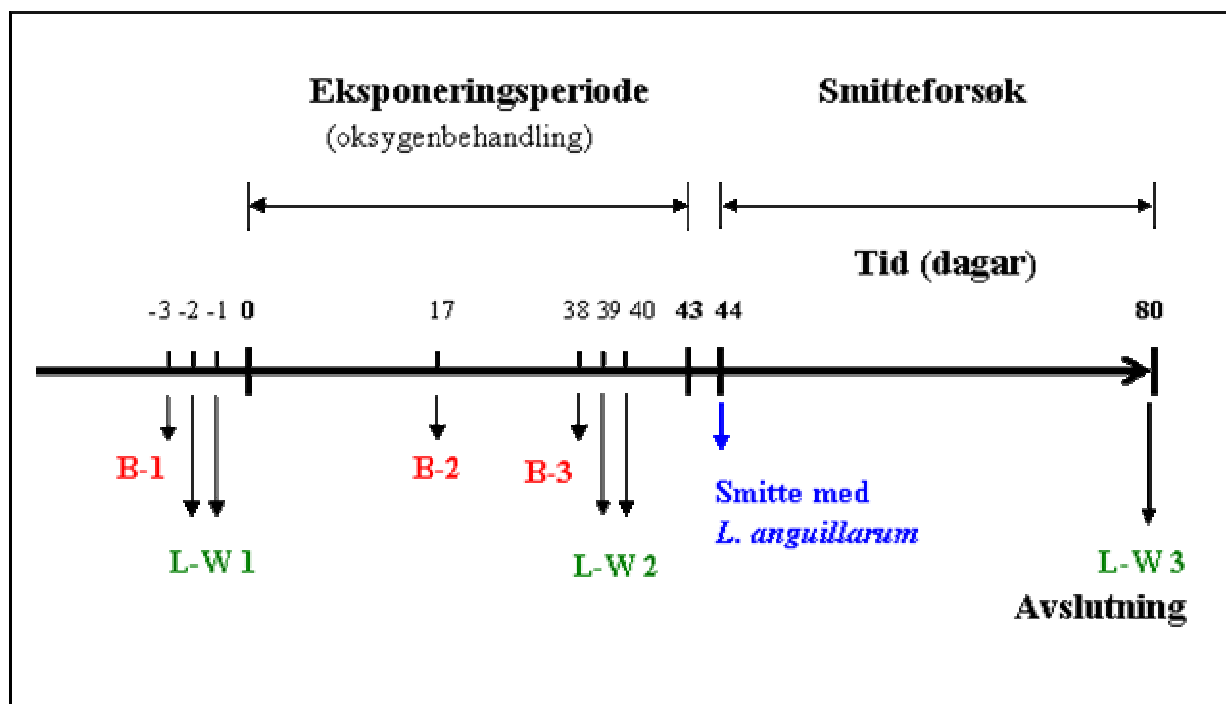
2 Materiale og metode

2.1 Forsøksdesign

Forsøket vart utført på Havbruksstasjonen i Tromsø (HiT), Indre Kårvik, Ringvassøya. Tidsrommet for forsøket, inkludert akklimeringsperioden på tre veker, var frå 20. april til 30. juli 2003.

Forsøket har to deler (figur 2.1). Den første delen (vidare referert til som **eksponeringsperioden**) føregjekk på Landanlegget (LA) ved HiT. Her vart duplikate grupper av torsk (snittvekt 39 gram ved forsøksstart) haldne ved ulike oksygennivå: 76 % (kontrollgruppe), 118 %, 145 % og 173 % oksygenmetting i avløpet. Eksponeringsperioden hadde varigheit på seks veker. Deretter vart overlevande fisk overført Fiskehelselaboratoriet (FHL), der den andre delen av forsøket, eit smitteforsøk med *Listonella (Vibrio) anguillarum* føregjekk. Denne perioden er vidare referert til som **smitteforsøket**. I denne delen av forsøket vart all fisk halden på om lag 76 % oksygenmetting.

Fisken var individmerka slik at kvart individ kunne følgjast gjennom heile forsøket. Lengde og vekt vart målt før og på slutten av eksponeringsperioden, og på overlevande fisk ved avslutning. Blodprøvar av eit utval fisk vart teke før, under og på slutten av eksponeringsperioden. Figur 2.1 syner forsøksforløpet, inkludert tidspunkt for lengde-/vektmåling og blodprøvetaking.



Figur 2.1. Forsøksdesign – tidslinje. Dag 0-43 utgjør **eksponeringsperioden**, dag 44-80 utgjør **smitteforsøket**. Overføring til Fiskehelselaboratoriet skjedde på dag 43. På dag 44 vart halvparten av fisken i kvar behandlingsgruppe smitta med *Listonella anguillarum*. B = blodprøveuttak, L-W = lengde- og vektmåling.

2.1.1 Forsøksfisken

Torsken som vart brukt i forsøket kom frå torskeyngelprodusenten Troms Marin Yngel (TMY) på Kvaløya, Tromsø kommune. Fisken (0+) var blanding av kysttorsk og skrei (heterozygote), og blei inkubert ved 6 °C. Startfôring med levandefôr og tørrfôr (Dana Feed[®], Torsk Dan-Ex 1362, Danmark) vart utført etter standard protokoll ved 6 °C, med gradvis tilvenning til 10 °C.

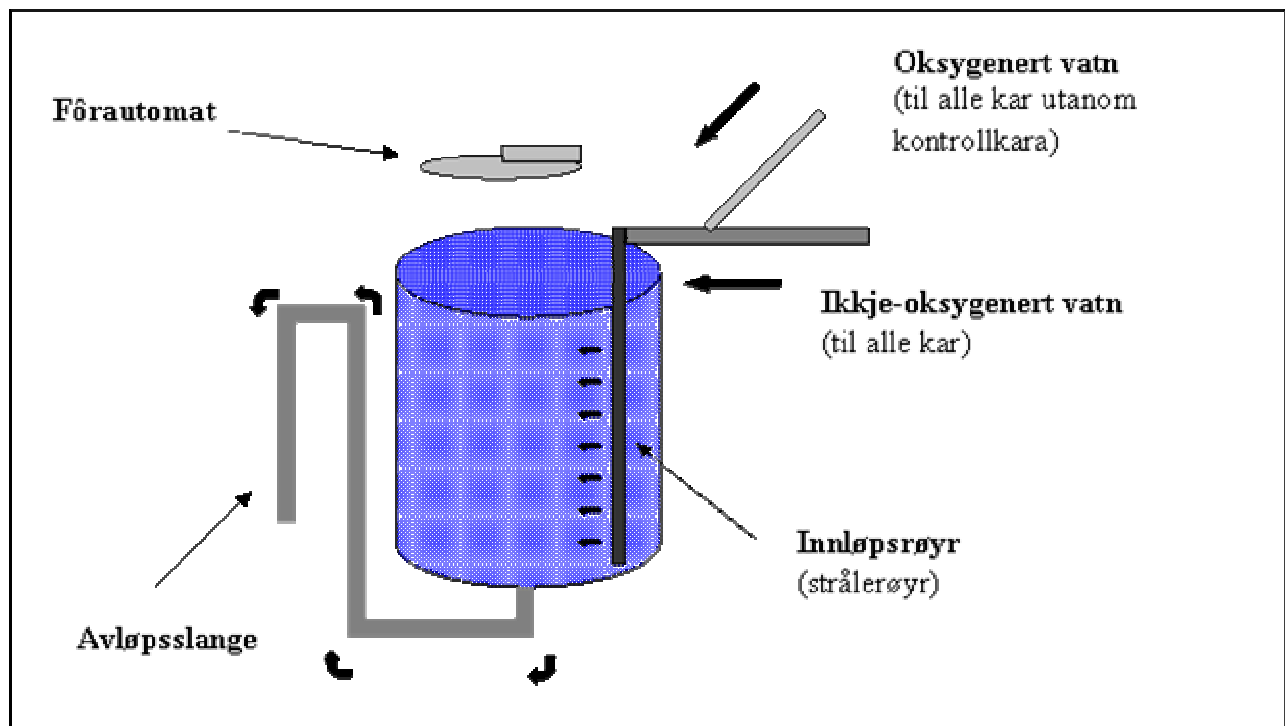
Fisken vart frakta til Havbruksstasjonen i februar 2003, og vart der haldne i to 1000-liters kar på naturleg sjøvatn (4 °C).

I perioden 26. februar til 3. mars 2003 vart fisken individmerka med Floy Tag-merkje (Fingerling FTF-69, FLOY TAG Inc., Seattle, USA). Merket vart festa i huda under fremre del av første ryggfinne. Under inngrepet var fisken bedøva med metakain (MS-222), 0,08 gram per liter sjøvatn. Fisken var mellom 20 og 35 gram ved merkingstidspunkt.

Fisken vart overført til forsøkskara den 20.april 2003, og akklimert til forsøksfasilitetane fram til forsøksstart 21 dagar seinare. Dagen før overføringa vart vasstemperaturen i lagringskara justert opp til 6 °C. Fisken vart tilfeldig fordelt i forsøkskara. Temperaturen var 8 °C, og oksygenmettinga 80-90 %. Forsøksbetingelsane var elles dei same som i eksponeringsperioden (sjå avsnitt 2.1.2), med unntak av oksygenering.

2.1.2 Forsøksfasilitetar i eksponeringsperioden

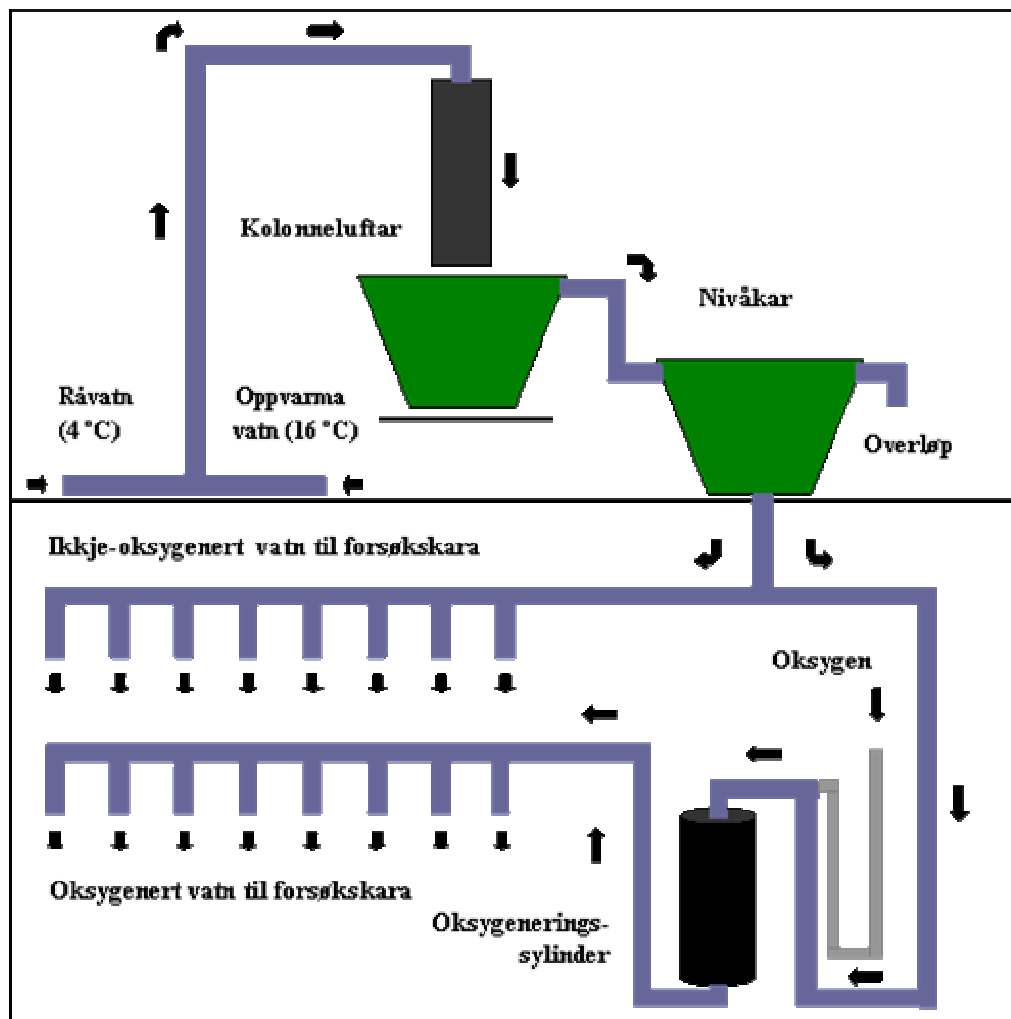
Forsøkskara var sirkulære, blå 500 liters kar med avløp i botnen. Vassnivået i kara vart justert til ca 425 liter ved hjelp av utvendige avløpsslangar (figur 2.2). Innløpsvatnet vart fordelt i karet med eit vertikalt strålerøyr som gav jamn fordeling av vatnet og god sirkulasjon i karet. Vasstraumen i kvart kar var 9 liter/minutt gjennom heile eksponeringsperioden, og teoretisk opphaldstid på vatnet var dermed ca 47 minutt. Fisketettheita var ved forsøksstart ca 11,1 kg/m³ og tilnærma lik mellom kara (+/- 0,2 kg/m³). Spesifikt vassforbruk var 1,9 liter/kg/minutt. Ved avslutning av eksponeringsperioden varierte fisketettheita frå 15,3 til 18,9 kg/m³ og det spesifikke vassforbruket låg mellom 1,1-1,4 l/kg/minutt. Variasjonen skuldast ulik vekst og dødelegheit i gruppene. Straumhastigheita vart målt til 0,11 meter/sekund, som tilsvarte 0,6 - 0,7 kroppslengder/sekund. Vasstraumen til dei ulike kara vart stilt inn ved hjelp av målebeger og stoppeklokke. Gjennom akklimerings- og eksponeringsperioden vart den regelmessig kontrollert og justert. Det vart brukt hoppenett over kara.



Figur 2.2 Skjematisk teikning av forsøkskar brukt i eksponeringsperioden.

For å få vatn med den ønskete temperaturen (8-10 °C), måtte filtrert, uoppvarma sjøvatn ("råvatn") blandast med filtrert, oppvarma (16 °C) sjøvatn. Sidan blanding av vatn med ulik temperatur kan gje gassovermetting, vart vatnet lufta før bruk. Dette vart gjort med ein kolonnenluftar og to nivåkar i etasjen over forsøksrommet (figur 2.3).

Frå det eine nivåkaret på loftet vart vatnet ført ned til forsøksrommet (figur 2.3). Ein del av vatnet vart pumpa gjennom ein oksygeneringssylinder, der oksygen vart tilsett under trykk. Det oksygenerte vatnet gjekk deretter inn på ei røyrsløyfe med forgreiningar til alle forsøkskar. Resten av vatnet gjekk inn på ei anna røyrsløyfe, også denne med forgreiningar til alle forsøkskar.



Figur 2.3. Skisse av vassbehandlingsoppsettet i forsøket (eksponeringsperioden). Råvatn (filtrert sjøvatn, naturleg temperatur, ca 4 °C) og oppvarma vatn (filtrert sjøvatn, ca 16 °C) vart blanda for å oppnå temperatur på 8-10 °C. Vatnet vart lufta i ein kolonneluftar, og gjekk via to nivåkar og ned til forsøksromma. Ein delstraum vart pumpa gjennom ein oksygeneringssylinder, der oksygen gass vart tilsett under trykk.

2.2 Oksygenbehandlninga (eksponeringsperioden)

Fisken vart utsett for ulik oksygenmetting frå dag 0 til dag 43 av forsøket. Det var fire duplikate grupper (tre behandlingsgrupper og ei kontrollgruppe), altså totalt åtte kar med fisk. Ved forsøksstart var det minimum 120 fisk i kvart kar, altså noko over 960 fisk totalt.

Følgjande oksygennivå (i avløpet) var planlagt for behandlingsgruppene: 120 %, 150 % og 180 % oksygenmetting. Sidan gruppa med høgast oksygenmetting opplevde stor dødelegheit, vart forsøket gjennomført med noko lågare oksygennivå enn dei planlagde, henholdsvis 118 %, 145 % og 173 % oksygenmetting i gjennomsnitt. Dei ulike oksygennivåa i forsøkskara vart oppnådd ved å blanda ulike mengder oksygenert og ikkje-oksygenert vatn i innløpet til karet (figur 2.2). For kontrollgruppa vart det kun brukt ikkje-oksygenert vatn. 70 % oksygenmetting i avløpet er av Christiansen *et.al* (1990) anbefalt som minimumsnivå for optimale vekstbetingelsar for fisk, og dette vart definert som nedre akseptable grense for kontrollgruppa.

Fisken gjekk på kontinuerleg lys i eksponeringsperioden. Utføringa skjedde i løpet av ein fire timars periode om natta (frå 04.00 til 08.00), med skivefôrautomatar. Fôret som vart brukt var torskefôr utan immunstimulantar frå Dana Feed (Dan-Ex 1562, 3 mm pellets, 15 % feitt og 62 % protein). Fôrmengda vart i utgangspunktet utrekna frå EWOS sin tilveksttabell for torsk frå 2003. Utover i forsøksperioden vart fôrmengda justert etter biomasse i kara, og fôrspill i fôroppersamlarane. Fisken vart fôra i overskot for at fôrtilgang ikkje skulle vera ein begrensande faktor for fisken sin vekst. Fôrinntaksmålingar tre gonger per veke gav god oversikt over at fôrtilgangen var tilstrekkeleg.

Innstilling og utprøving av anlegget skjedde forut for akklimeringsperioden. I akklimeringsperioden var gassen skrudd av, men dei førehandsinnstilte vasstraumane gjennom oksygeneringsanlegget vart haldne som før. Ved forsøksstart ("dag 0") vart oksygen gassen skrudd gradvis på over 7-8 timar.

2.2.1 Registrering av vasskvalitet

Oksygenmettinga i avløpsvatnet vart målt og registrert av eit automatisk måleanlegg. Avløpsvatn frå eitt og eitt kar vart pumpa over i ei haldecelle der ein sensor (Mettler Toledo, O₂ 4100) målte oksygenmettinga (bilde 2.1). Etter ti minuttars utpumping frå eitt kar, vart den sist målte oksygenverdien loggført i dataprogrammet XS (Spider, Tromsø), og pumpa sjalta over til neste kar. Ti minuttars pumpetid var på førehand utprøvd og funne å vera lang nok tid for at alt vatnet i haldecella skulle vera skifta ut, og til at sensoren hadde stabilisert seg rundt gjeldande oksygenmettingsverdi. Den automatiske oksygenmålinga hadde opphald i tidsrommet 04.00 – 10.00 på grunn av utføring. Oksygenverdiane for natt, føremiddag og ettermiddag vart notert for alle kar. Sensoren vart dagleg spylt med destillert vatn for å førebyggja begroing, og deretter kalibrert.



Bilde 2.1 Haldecella med oksygensensoren. Pumpa til høgre forsyner haldecella i midten med vatn frå avløpet til forsøkskara. Avløpsmunken til venstre regulerer og opprettheld vassnivået i haldecella.

Temperatur vart målt manuelt i avløpsvatnet på alle kar dagleg i akklimerings- og eksponeringsperioden.

Tre gonger (fire gonger i 145 % O₂-gruppa) i løpet av eksponeringsperioden (dag 12, 19, 26 og 32) vart det totale gassoverttrykket i avløpsvatnet målt med eit Weiss-saturometer. Utifrå den målte verdien, og samtidige verdiane for temperatur, oksygenmetting og atmosfærisk trykk, vart verdiane for % totalmetting av gassar og % metting av nitrogen og argon berekna. For å

kontrollera at måleinstrumentet gav riktige verdiar vart det på den fjerde målinga i 145 % O₂-gruppa også brukt ein annan gassmettingsmålar (Sup Sat 110, RS Process, Trondheim). Dei to gassmettingsmålarane gav nesten identiske resultat ved denne målinga.

Måling av total gassmetting i vatnet vart utført i avløpet til kara. Oksygensensoren som vart brukt i den daglege målingane av oksygen var fastmontert på eit anna rom enn forsøksrommet. Det måtte derfor brukast ein annan oksygenmålar (OxyGuard Handy Delta) ved gassmettingsmålingane.

Tre gonger i løpet av eksponeringsperioden (dag 15, 31 og 37) vart det teke ut vassprøvar frå alle kar. Prosedyren for vassprøvetaking (sjå vedlegg) vart nøye fulgt, og prøvane vart sendt til Norsk institutt for vannforskning (NIVA) for analyse. NIVA målte pH, konduktivitet, alkalitet, salinitet, turbiditet, fosfat-, nitrogen-, og karbonforbindelsar i vassprøvane.

2.2.2 Fysiologiske og morfologiske målingar

Målingar av lengde og vekt vart gjort tre gonger i løpet av forsøket. Tidspunkta for lengde- og vektmåling var rett før igangsetting av eksponeringsperioden (dag -1 og -2), på slutten av eksponeringsperioden (dag 39 og 40), og ved avslutning av forsøket (dag 80) (figur 2.1). Ved dei to første lengde/vekt-målingane var fisken bedøva med metakain (MS-222), 0,08 gram per liter sjøvatn. Ved avslutning av forsøket vart fisken avliva med overdose av metakain før lengde- og vektmålinga. Lengda vart målt frå snuten til midten av sporden (gaffellengde), til nærmaste 0,1 cm. Vekta vart målt til nærmaste 0,5 g.

Blodprøvar av fisken vart teke tre gonger i løpet av eksponeringsperioden (dag -3, 17 og 38) (figur 2.1). Ved første blodprøvetaking vart det teke ut ein fisk per kar, ved dei to neste seks fisk per kar. Fisken vart håva raskt opp av karet og umiddelbart avliva med slag mot hovudet. Deretter vart blodprøve teken ut frå kaudalvena med sprøyte og lagt på is i inntil 1-2 minutt før vidare analyse av blodet vart gjort. Heparin vart brukt i sprøyta for å hindra blodet i å koagulera. Lengde, vekt og individnummer vart registrert, samt eventuelle ytre skader på augo, finner og hud. Fisken vart deretter snitta opp med skalpell, og kjønn og eventuell modning registrert. Modningsgraden av gonadane vart kategorisert i ein skala frå 0-5, der 0

betyr heilt umoden, 1 er umoden, 2 er begynnande modning, 3 er moden men ikkje gytande, 4 gytande og 5 ferdig gytt. På umodne gonadar vart det benytta lupe for å sjå etter oocytar.

Blodet vart analysert med i-STAT[®] (Abbott Laboratories, East Windsor, New Jersey, USA), eit handhalde måleapparat for heilblodsanalyse. Brønnen i analysekassetten vart fylt opp med blod direkte frå sprøyta, og deretter lukka raskt igjen slik at blodet hadde minimal kontakt med luft. Avhengig av kva slags analysekassett som blir brukt, kan i-STAT-apparatet analysere blodet med hensyn på ei rekkje parametrar. I dette forsøket vart eingangskassetter av typen EC8+ brukt. I-STAT-apparatet målte då Na^+ , K^+ , urea, glukose, pCO_2 , hematokrit (Hct) og pH i blodet. Utifrå dei målte verdiane kalkulerer apparatet verdiar for total CO_2 (TCO_2), bikarbonat (HCO_3^-) og hemoglobin.

i-STAT-apparatet er konstruert primært for bruk på menneskeblod og derfor er apparatet ikkje i stand til å måla så høge verdiar for Cl^- som det ein finn i blodet til marin fisk. Resten av blodet vart derfor overført til Eppendorf-røyr og sentrifugert, og blodplasma pipettert ut og frose ned til -80°C . Kloridanalyser (Corning 925, Ciba Corning Diagnostics, Essex, England) vart seinare gjort på blodplasmaet. i-STAT-apparatet går ut frå at blodet held 37°C . Dette fører truleg til at pH i blodet vert underestimert, noko som vil ha konsekvensar for berekninga av HCO_3^- og CO_2 . Diskusjonen omring blodparametrane er derfor basert på dei relative forskjellane mellom gruppene, og ikkje på dei målte nivåa.

I eksponeringsperioden var det gjennomført fôrintaksmålingar tre gonger per veke (måndag, onsdag og fredag). Ei kjent mengde fôr vart lagt på fôrautomaten dagen i førevegen. Ein fôroppsamlar med tilhøyrande dørslag (sil) vart sett opp under avløpsslangen på kvart kar (bilde 2.2). Om morgonen vart resterande fôr på automaten teke av og vege. Fôrrestane i fôroppsamlaren vart skylt for å fjerna avføring, og deretter vege. Vektauken (svellingsfaktoren) til fôret frå tørrvekt til våtvekt var på førehand berekna ved å gjera tilsvarende måling på kar utan fisk.

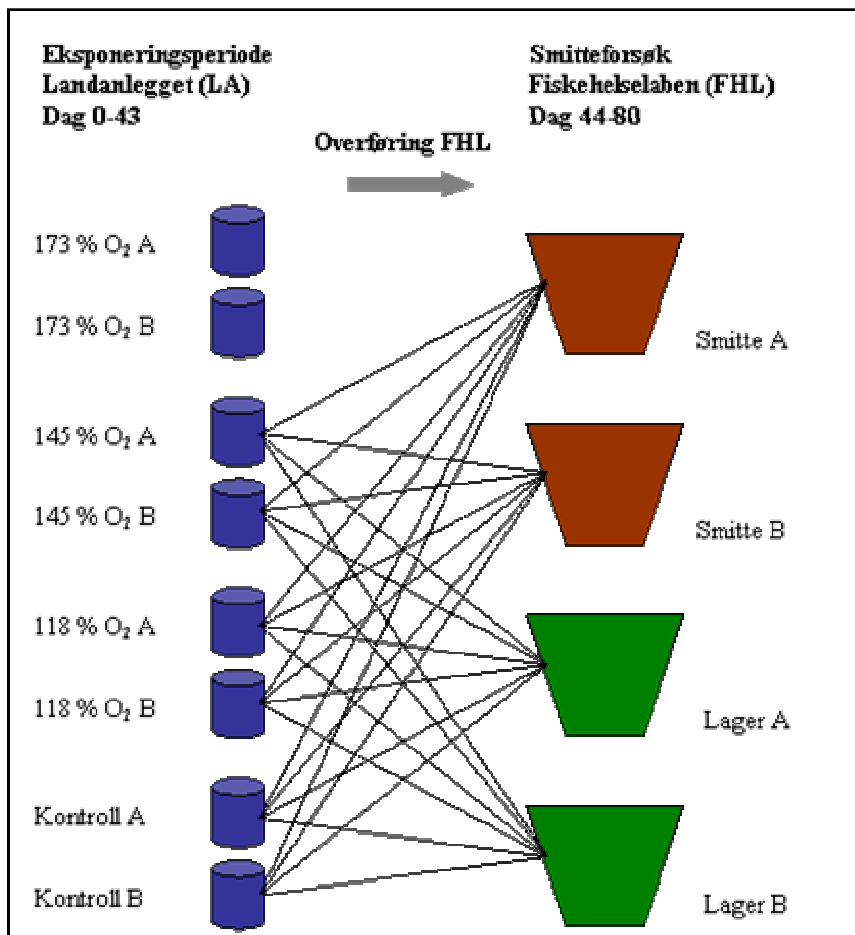


Bilde 2.2 Fôroppsamlaren som vart brukt ved fôrinntaksmålingane. Overskotsfôr blir spylt ut frå karet med avløpsvatnet, og blir liggjande i fôroppsamlaren eller i dørslaget.

2.3 Smitteforsøket

2.3.1 Overføring av fisk til FHL

På dag 43 etter forsøksstart vart fisken overført til Fiskehelselaboratoriet (FHL). Fisk frå kvart kar vart fordelt likt på fire kar på FHL, der to av kara var på smitteavdelinga og to var på lageravdelinga (figur 2.4).



Figur 2.4. Skjematisk framstilling av overføring av fisk til Fiskehelselaboratoriet (FHL) forut for smitte med *Listonella anguillarum*. Fisk frå kvart kar på Landanlegget (LA) vart fordelt likt på fire kar på FHL (to smittekar - smittegruppa og to lagerkar - kontrollgruppa). Overføringa til FHL skjedde på dag 43 etter forsøksstart, og fisken vart smitta på dag 44 etter forsøksstart. All fisk i 173 % O₂-gruppa døyde i løpet av eksponeringsperioden, og det vart derfor ikkje overført fisk frå denne gruppa til FHL.

2.3.2 Dyrking av bakteriar

Bakterieisolatet som vart brukt var *Listonella anguillarum*, (tidlegare kalla *Vibrio anguillarum*), serotype O2b, stamme 4299, karakterisert av Veterinærinstituttet i mars 2003. Bakterien vart oppbevart i glycerol (200 µl 87% glycerol + 800 µl bakteriekultur) ved -80°C. Bakterien vart dyrka på blodagarskåler med 2 % NaCl, og i det flytande dyrkingsmediet Marine Broth (MB).

Bakterieisolatet vart teke rett frå -80 °C, stroke ut på blodagar og inkubert ved 12 °C. Etter tre døgn vart reine bakteriekoloniar inokulert til røyr med 5 ml MB, og inkubert med risting i eitt døgn ved 12°C (forkultur). 2 ml kultur frå røyrret vart deretter overført til ei kolbe med 50 ml MB, og inkubert med risting i eitt døgn ved 12 °C (hovedkultur).

Før smitte vart bakteriekonsentrasjonen berekna ved å måla optisk tettheit ved 600 nm ($OD_{600\text{ nm}}$, OD = optical density) i ei fortynna løysing av hovedkulturen. $OD_{600\text{ nm}} = 1$ betyr at bakteriekulturen inneheld 1×10^9 celler per ml. Bakterieløysinga vart også studert i mikroskop for å sjekka viabiliteten.

Kimtal (= cfu, colony forming units) vart bestemt ved å fortynna hovedkulturen til 10^3 , 10^2 og 10^1 bakteriar/ml (forventa konsentrasjon utifrå OD-måling). 100µl frå kvar av desse fortynningane vart stroke ut på duplikate petriskåler med blodagar. Skålene vart inkubert ved 12 °C, og etter tre døgn vart antal bakteriekoloniar telt. Ut i frå dette vart smittedosen i levande bakteriar/ml (cfu/ml) berekna.

2.3.3 Presmitte

For å finna ein passande bakteriekonsentrasjon til smitteforsøket vart det gjort eit presmitteforsøk. Det var ønskeleg å oppnå mellom 40 - 60 % dødelegheit i kontrollgruppa for å fanga opp eventuelle forskjellar mellom behandlingsgruppene. Mikkelsen *et.al* (2004) oppnådde ein dødelegheit på 62 - 80 % i kontrollgruppa etter smitte med *L. anguillarum* serotype O2b på torsk. Bakteriekonsentrasjonen var $1,8 \times 10^5$ cfu/ml, og samme bakteriestamme vart brukt som i vårt forsøk. Med dette som bakgrunn vart det gjort eit presmitteforsøk med tanke på å titrera smittekonsentrasjonen for hovudforsøket.

90 torsk på 50-100 gram, av samme opphav som fisken i hovudforsøket, vart overført frå LA til tre 200 liters kar på FHL. Tre bakteriekonsentrasjonar vart prøvd ut: 5×10^3 , 10^4 og 5×10^4 bakteriar/ml. For kvar konsentrasjon vart 30 fisk smitta. Det vart ikkje brukt replikatar. Fisken vart halden på kontinuerleg lys. Vassgjennomstrøyminga var 5 l/min og temperaturen låg på mellom 10,0 og 10,9 °C. Oksygenmettinga varierte mellom 84-97 %.

Rett forut for smitte vart vasstilsørsla skrudd av, og vasstanden i kara tappa ned til 50 liter. Prosedyren for tillaging av bakterieløysing og gjennomføring av badsmitte var elles den samme som i hovudforsøket.

2.3.4 Smitte av fisken i hovudforsøket

Fisk frå kvart kar vart fordelt likt på fire stampar og deretter frakta til FHL. Fisk som hadde mista individmerket vart sortert ut og ekskludert frå forsøket. To av stampane vart tekne inn på smitteavdelinga, og fisken vart overført til to 900 liters kar. Fisken i dei andre to stampane vart overført til to 900 liters kar på lagringsavdelinga.

Dagen etter flytting vart fisken i smittekara badsmitta med *L. anguillarum*. Vasstilførsla vart skrudd av, vasstanden tappa ned til 400 liter, og bakterieløysing tilsatt. Medan badsmitten pågjekk, vart temperaturen og oksygenivået overvaka. Oksygen vart tilsett ved behov, og oksygenmettinga låg på 70-85 %. Ein time etter tilsetjing av bakteriar vart vatnet skrudd på igjen. Gruppene på lagring fekk samme behandling, bortsett frå tilsetjing av bakterieløysing.

Ut frå resultatata etter presmitteforsøket (kapittel 3.6.2) vart det bestemt å bruka ein bakteriekonsentrasjon på 3×10^3 bakteriar/ml i smitten.

Fisketettheita var ved forsøksavslutning (dag 80) $23,8 \text{ kg/m}^3$ og $24,2 \text{ kg/m}^3$ i kontrollkara. Vassgjennomstrøyminga i kara var 20 l/min i både kontrollkar og smittekar, noko som ved dag 80 gav eit spesifikt vassforbruk på 0,92-0,93 l/kg/minutt for kontrollkara. Det var lågare tettheit og høgare spesifikt vassforbruk i smittekara på grunn av dødelegheit etter smitte. Vasstemperaturen var i snitt $9,8 \text{ }^\circ\text{C}$. Fisken gjekk på kontinuerleg lys og vart kontinuerleg fôra frå skivefôrautomatar med samme type fôr som i eksponeringsperioden (Dan-Ex 1562, 3 mm pellets frå Dana Feed). Vasstemperatur og oksygenmetting i avløpet vart målt ein gong per veke. Dødfisk vart fjerna dagleg, og individnummer notert ned.

Det vart regelmessig dyrka bakteriar frå dødfisk i smittegruppa for å påvisa *L. anguillarum*. Prøven vart henta ut med steril podenål frå nyra til fisken, og dyrka på blodagar med 2 % NaCl. Bakterieoppveksten vart deretter testa med agglutinasjonstest for *L. anguillarum* (MONO-Va, Bionor AS, Skien).

Forsøket fekk gå til dødelegheita avtok. 36 dagar etter smitte vart overlevande fisk avliva med overdose av metakain. Det samme vart gjort med fisken som hadde stått på lagring. Lengde og vekt på den overlevande fisken vart målt og notert.

2.4 Utrekningar

2.4.1 Vekstrate

Spesifikk vekstrate (specific growth rate, SGR) hjå fisken uttrykkjast som prosent dagleg tilvekst mellom to måletidspunkt. SGR kan bereknast med følgjande formel

$$\text{SGR} = 100 \times (\ln W_2 - \ln W_1) / T$$

der W_2 og W_1 er vekta ved henholdsvis andre og første måletidspunkt, og T er tida (antall dagar) mellom måletidspunkta.

2.4.2 Kondisjonsfaktor

Kondisjonsfaktor (K-faktor) uttrykkjer forholdet mellom lengde og vekt hjå eit individ ved eit gitt tidspunkt. K-faktor kan bereknast med følgjande formel:

$$\text{K-faktor} = 100 \times (W / L^3)$$

der W er fisken si vekt (i gram), og L er fisken si lengde (i cm).

2.4.3 Fôrinntaksmålingar

Tre fôrinntaksmålingar vart utført i eit kar utan fisk for å berekna ein faktor mellom tørt og vått fôr. Faktoren vart berekna til 2,2. Fôrinntaket (tørrvekt) per kar kan då bereknast ut frå følgjande formel:

$$\text{Fôrinntak} = [(\text{utfôra mengde} \times 2,2) - \text{fôrspill}] / 2,2$$

2.4.4 Gassmetting i vatnet

$$\% \text{ totalmetting} = \frac{(P_{\text{atm}} + \Delta P)}{P_{\text{atm}}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ N}_2 \text{ og argonmetting} = \frac{(P_{\text{atm}} + \Delta P - (O_2 / B_{O_2} \times 0.532) - P_{\text{H}_2\text{O}})}{(P_{\text{atm}} - P_{\text{H}_2\text{O}}) \times 0.7902} \times 100 \%$$

P_{atm} = det atmosfæriske lufttrykket (mmHg) avlese på barometer

ΔP = totalt gassovertrykk i vatnet (mmHg), avlese på saturometer

O_2 = oksygenmengde oppløyst i vatn (mg /liter), avlese på oksygenmålar

B_{O_2} = Bunsen løyeselegheitskoeffisient for oksygen, avhengig av vasstemperaturen. Avlese i tabell.

$P_{\text{H}_2\text{O}}$ = partialtrykk for vassdamp, avhengig av vasstemperaturen. Avlese i tabell.

2.5 Databehandling og statistikk

2.5.1 Dataverktøy

Datamaterialet frå målingar av lengde, vekt, blodparametrar, vassparametrar og fôrintaksmålingar vart lagt inn i Excel (Microsoft Office, versjon 2000 og 2003) og bearbeida der. Statistisk behandling av datamaterialet, samt figurar og grafar, er gjort i GraphPad Prism, versjon 4 (GraphPad Software Inc., San Diego, California, USA) og Systat versjon 10.2 (Systat Software Inc., Richmond, California, USA).

2.5.2 Datagrunnlag

Individmerking av fisken gjorde det mulig å følgja veksten for kvart individ gjennom forsøket, og til å spora fisken i smitteforsøket tilbake til kva slags gruppe den tilhørde i eksponeringsperioden. Dessverre mista ein liten del av fisken merket i løpet av forsøket. I data for overlevelse etter smitte er derfor dødfisk utan merkje uteletne. I eksponeringsperioden er dødfisk utan merkje tekne med i datamaterialet for overlevelse, sidan gruppene på dette tidspunktet gjekk i separate kar, og individmerket derfor ikkje var nødvendig for å spora gruppetilhøyrighet.

Vekstdata for fisk utan merkje er også utelete i vidare bearbeiding av datamaterialet. For fôrintaksmålingar og vasskjemiske undersøkjelsar er den totale biomassen i karet lagt til grunn.

2.5.3 Statistisk analyse av resultatata

Datamaterialet for vekstdata (lengde, vekt, k-faktor og vekstrate), blodparametrar og fôrintaksmåling vart testa for normalfordeling med Kolmogorov-Smirnov test med Lilliefors som post hoc test. Deretter vart einvegs ANOVA med Tukey-Kramer post hoc test brukt for å

samanlikna duplikate kar. 5 % signifikansnivå vart brukt ($P > 0,05$ betyr ingen signifikant forskjell). Verdier for duplikate kar vart slått saman der det ikkje var signifikant forskjell mellom kara, og gruppene vart samanlikna med einvegs ANOVA/Tukey-Kramer.

For blodparametrane vart tovegs ANOVA brukt, med tid og behandling som variablar. Vasskjemiparametrane vart også analysert med tovegs ANOVA, med behandling og replikat som variablar. Tukey-Kramer vart benytta som post hoc test der signifikante forskjellar vart funne. Resultata av desse post hoc-testane er gitt i vedlegg. Men der interaksjonen mellom desse to variablane var signifikant, vart det ikkje gjort vidare testar. I slike tilfelle er det ifølgje Zar (1996) generelt sett inga meining i å gjera vidare testar for nokon av faktorane.

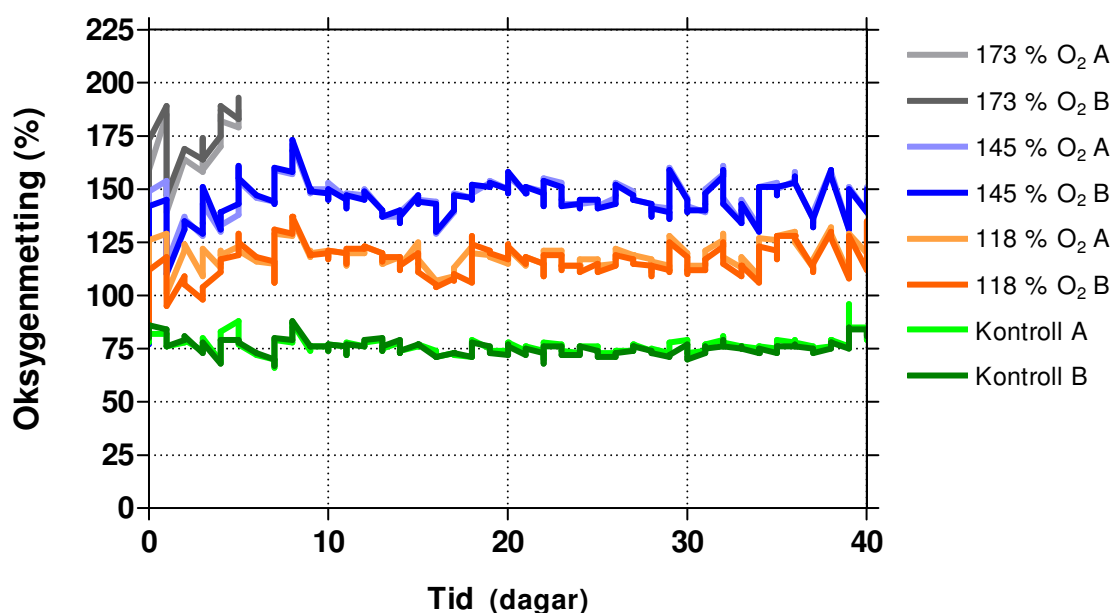
Data for dødelegheit i dei ulike gruppene er plotta i GraphPad Prism 4. Dette programmet kalkulerer overlevelsesprosent ved hjelp av Kaplan-Meier metoden, og samanliknar overlevelse i dei ulike gruppene med logrank-test.

3 Resultat

3.1 Vasskvalitet i eksponeringsperioden

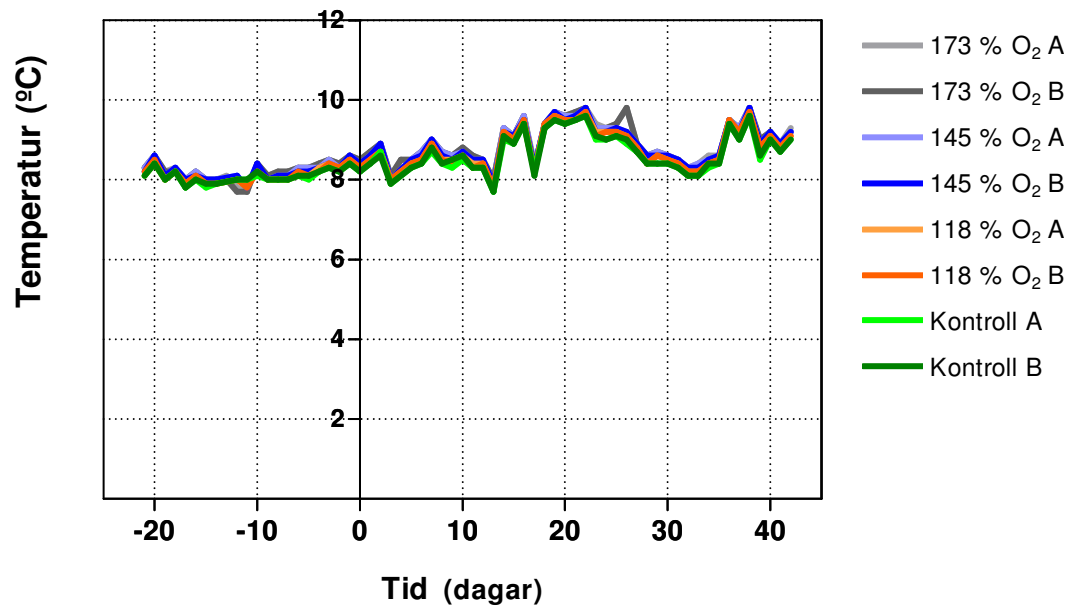
3.1.1 Oksygenmetting og temperatur

Oksygenmettinga i vatnet var stabil i eksponeringsperioden (figur 3.1 og tabell 3.1). Mellom dei duplikate kara var det ingen signifikant forskjell i oksygenmetting.



Figur 3.1. Oksygenmetting (%) målt i avløpet til dei ulike kara i eksponeringsperioden. Kvart punkt er gjennomsnittet av tre målingar gjennom døgnet. Dag 0 er tidspunkt for igangsetjing av oksygenbehandling. Verdiane for 173 % O₂-gruppa er frå dag 6 og utover ikkje tekne med, sidan dødelegheita på dette tidspunktet hadde nådd nesten 100 %.

Temperaturen endra seg litt over tid (figur 3.2 og tabell 3.1). Dette var på grunn av at råvasstemperaturen auka utover våren. Forskjellen mellom kara var liten eller ingen. Det var aldri meir enn 0,3 °C forskjell mellom kara på ein og samme dag.



Figur 3.2 Vastemperatur i kara i akklimerings- og eksponeringsperioden. Dag -21 til 0 utgjør akklimeringsperioden. Dag 0 er tidspunkt for igangsetjing av oksygenbehandling.

Tabell 3.1 Oksygenmetting (i avløp) og temperatur i forsøkskara i eksponeringsperioden (dag 1-42)
Verdiane for oksygenmetting i 173 % O₂-gruppene er frå dag 1-5 i eksponeringsperioden.

Gruppe	Oksygenmetting		Temperatur	
	Gjennomsnitt (% ± SD)	Maks/min (%)	Gjennomsnitt (°C ± SD)	Maks/min (°C)
Kontroll A	76,5 ± 4,0	66 / 96	8,7 ± 0,5	7,7 / 9,6
Kontroll B	75,6 ± 3,7	67 / 88	8,7 ± 0,5	7,7 / 9,6
118 % O ₂ A	118,9 ± 6,4	101 / 136	8,8 ± 0,5	7,8 / 9,7
118 % O ₂ B	117,0 ± 7,8	95 / 137	8,8 ± 0,5	7,8 / 9,7
145 % O ₂ A	145,8 ± 8,4	115 / 171	8,9 ± 0,5	7,9 / 9,8
145 % O ₂ B	145,2 ± 8,6	110 / 173	8,9 ± 0,5	7,9 / 9,8
173 % O ₂ A	171,0 ± 14,9	139 / 187	8,7 ± 0,5	7,7 / 9,8
173 % O ₂ B	175,8 ± 14,1	147 / 193	8,7 ± 0,5	7,7 / 9,8

3.1.2 Gassmetting i vatnet

Vatnet i kara med oksygenert vatn var overmetta av gass (ΔP -verdien er positiv), medan vatnet i kontrollkara var noko undermetta (tabell 3.2). Vidare var nitrogen- og argonmettinga høgast for kontrollkara, og synkande med aukande oksygenmetting.

Tabell 3.2. ΔP , total gassmetting og N₂- og argonmetting i vatnet i eksponeringsperioden. Verdiane for 173 % O₂-gruppa baserer seg på ei måling, utført på dag 1 i eksponeringsperioden. Verdiane for dei andre gruppene er gjennomsnittet (\pm SD) av tre målingar for kvart kar (fire målingar for 145 % O₂-gruppa), føretekte på dag 12, 19, 26 (og 32) i eksponeringsperioden, totalt seks (åtte) målingar per gruppe.

Gruppe	ΔP (mmHg)	Total gassmetting (%)	N₂- og argonmetting (%)
Kontroll	-18,5 \pm 2,7	97,6 \pm 0,37	102,5 \pm 0,50
118 % O ₂	39,3 \pm 4,0	105,2 \pm 0,55	100,7 \pm 0,43
145 % O ₂	75,5 \pm 4,8	109,5 \pm 0,73	98,3 \pm 2,04
173 % O ₂	115	115,0	91,4

3.1.3 Vassanalyse

Det var ingen signifikante forskjellar mellom gruppene eller replikata for nokon av parametrane, med unntak av ammoniakk (NH₃-N), der nivået var signifikant høgare i 145 % O₂-gruppa enn i kontrollgruppa (tabell 3.3).

Tabell 3.3. Resultat av vassanalyser utført av Norsk Institutt for Vannforskning (NIVA). Tal i parentes er verdier korrigert for biomasse (mengde stoff per kg fisk).

Resultata av to-vegs ANOVA med behandling (O₂-metting) og replikat (A/B) som faktorer er gjengitt nederst i tabellen. Der det er signifikant forskjell er P-verdien oppgitt. Ingen signifikant forskjell er markert med "ns". For Totalnitrogen, HN₄-N, NH₃-N, PO₄-P og CO₂ er det dei korrigerte verdiane (tal i parentes) som er testa.

Dag	Gruppe	Biomasse (kg fisk)	pH	Totalnitrogen µg/l N	NH ₄ -N µg/l N	NH ₃ -N µg/l	NO ₃ -N µg/l N	KOND mS/m	ALK mmol/l	SAL	TURB860 FNU	PO ₄ -P µg/l P	CO ₂ mg/l	SiO ₂ -Sj µg/l SiO ₂	TOC mg/l
15	145 % O ₂ A	5,29	7,79	390 (73,7)	226 (42,7)	2,2 (0,41)	58	4880	2,3	33,6	0,1	44 (8,3)	1,9 (0,36)	172	1,1
15	145 % O ₂ B	5,59	7,79	405 (72,5)	236 (42,2)	2,3 (0,40)	58	4880	2,3	33,6	0,2	32 (5,7)	2,1 (0,38)	163	1,3
15	118 % O ₂ A	5,83	7,79	440 (75,5)	260 (44,6)	2,5 (0,43)	82	4870	2,3	33,6	0,2	61 (10,5)	2,2 (0,38)	179	1,2
15	118 % O ₂ B	5,80	7,77	470 (81,0)	287 (49,5)	2,6 (0,45)	58	4850	2,3	33,6	0,2	43 (7,4)	2,3 (0,40)	162	1,4
15	Kontroll A	5,44	7,81	400 (73,5)	216 (39,7)	2,2 (0,40)	58	4860	2,3	33,6	0,2	32 (5,9)	2,0 (0,37)	161	1,2
15	Kontroll B	5,60	7,81	405 (72,3)	226 (40,4)	2,3 (0,40)	58	4880	2,3	33,6	0,2	54 (9,6)	2,2 (0,39)	179	1,2
31	145 % O ₂ A	5,64	7,88	410 (72,7)	225 (39,9)	2,6 (0,47)	62	4890	2,3	33,7	0,2	44 (7,8)	2,5 (0,44)	213	1,1
31	145 % O ₂ B	6,13	7,88	435 (71,0)	252 (41,1)	2,9 (0,48)	60	4900	2,3	33,7	0,6	42 (6,9)	2,7 (0,44)	190	1,2
31	118 % O ₂ A	6,78	7,88	425 (62,7)	229 (33,8)	2,7 (0,40)	57	4900	2,3	33,6	1,0	51 (7,5)	2,9 (0,43)	156	1,3
31	118 % O ₂ B	6,82	7,86	460 (67,4)	258 (37,8)	2,7 (0,39)	59	4910	2,3	33,7	0,6	54 (7,9)	2,6 (0,38)	242	1,2
31	Kontroll A	5,76	7,90	385 (66,8)	189 (32,8)	2,3 (0,40)	63	4890	2,3	33,6	0,1	39 (6,8)	2,4 (0,42)	339	1,2
31	Kontroll B	6,31	7,90	365 (57,8)	191 (30,3)	2,3 (0,37)	62	4900	2,3	33,8	0,7	33 (5,2)	2,5 (0,40)	188	1,3
37	145 % O ₂ A	6,02	7,92	385 (64,0)	223 (37,0)	2,9 (0,48)	36	4870	2,3	33,4	0,3	39 (6,5)	1,8 (0,30)	82	1,3
37	145 % O ₂ B	6,58	7,91	415 (63,1)	259 (39,4)	3,3 (0,49)	36	4860	2,2	33,4	0,2	31 (4,7)	1,4 (0,21)	78	1,1
37	118 % O ₂ A	7,34	7,90	430 (58,6)	265 (36,1)	3,3 (0,44)	36	4860	2,3	33,4	0,2	45 (6,1)	1,9 (0,26)	86	1,4
37	118 % O ₂ B	7,39	7,92	430 (58,2)	269 (36,4)	3,4 (0,47)	36	4850	2,3	33,4	0,3	35 (4,7)	1,7 (0,23)	86	1,4
37	Kontroll A	6,08	7,94	295 (48,5)	162 (26,6)	2,2 (0,36)	36	4850	2,3	33,4	0,7	29 (4,8)	1,1 (0,18)	78	1,2
37	Kontroll B	6,73	7,93	310 (46,1)	162 (24,1)	2,1 (0,32)	36	4860	2,3	33,4	0,3	22 (3,3)	1,2 (0,18)	71	1,2

Tovegs ANOVA

Replikat	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Behandling	ns	ns	ns	0,018 *	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Replikat * behandling	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

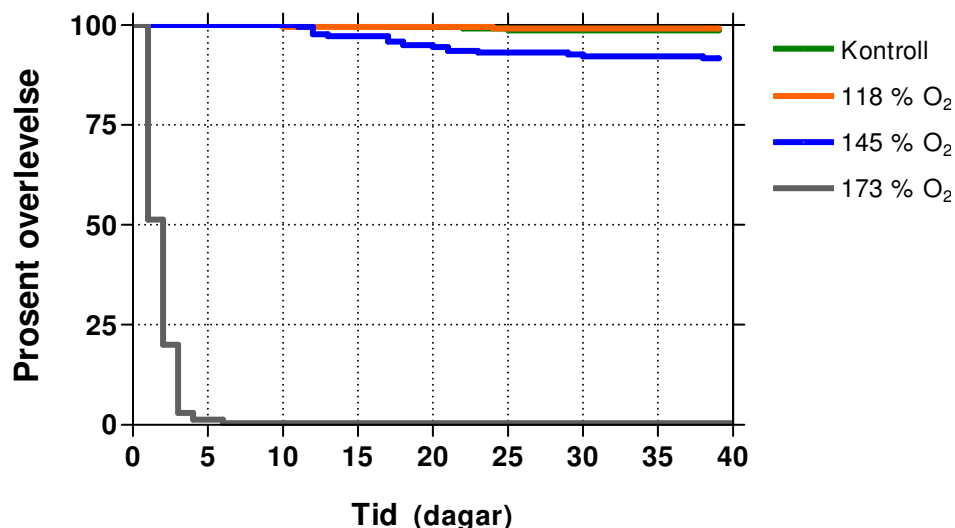
- Tukey-Kramer post hoc test: signifikant forskjell mellom 145 % O₂-gruppa og kontrollgruppa.

3.2 Dødelegheit i eksponeringsperioden

Oksygentilførsla inn i anlegget vart skrudd gradvis på i løpet av ettermiddagen på ”dag 0”. Siste sjekk av forsøksfisken og oksygeneringsanlegget vart gjort klokka 23 om kvelden. På dette tidspunktet vart det ikkje observert endringar i fisken sin oppførsel.

Neste sjekk av anlegget vart gjort klokka 0800 neste dag (”dag 1”). I 173 % O₂-gruppa vart eit titals fisk funne flytande med buken opp. Nokre av dei var allereie døde, og dødelegheita i gruppa steig raskt utover dagen. På dag 4 etter forsøksstart hadde dødelegheita i denne gruppa nådd nesten 100 %, kun tre fisk var enno i live. To av desse døydde på dag 6. Den siste levde heilt til dag 40.

I 145 % O₂- gruppa var det 8,3 % akkumulert dødelegheit gjennom eksponeringsperioden. Dødelegheita tok til på dag 11 og fortsette jamnt utover i eksponeringsperioden. Kontrollgruppa og 118 % O₂-gruppa hadde henholdsvis 1,4 % og 0,9 % akkumulert dødelegheit i eksponeringsperioden. Dødelegheitsforløpet i eksponeringsperioden er framstilt grafisk (som overlevelseskurve) i figur 3.3.



Figur 3.3 Overlevelse (%) i dei ulike gruppene i eksponeringsperioden. Dag 0 er tidspunktet for igangsetjing av oksygenbehandling.

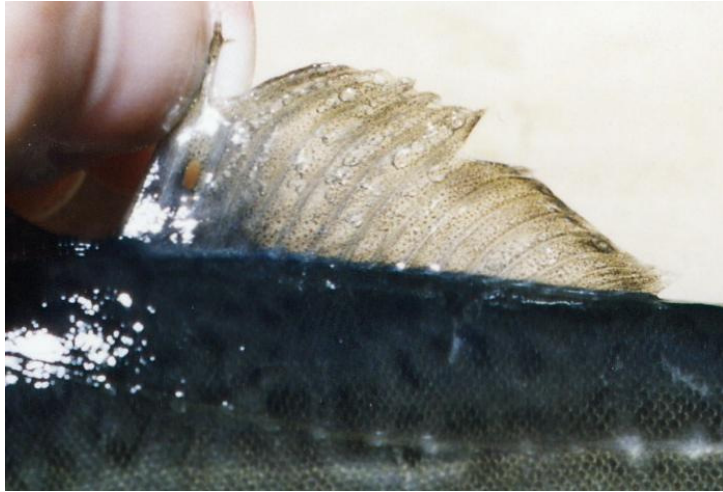
Etter overføring til FHL lager, med normalt oksygennivå i vatnet, var det ingen dødelegheit i nokon av behandlingsgruppene. For dødelegheit i smitteforsøket, sjå kapittel 3.6.4.

3.2.1 Ytre kliniske teikn på gassovermetting

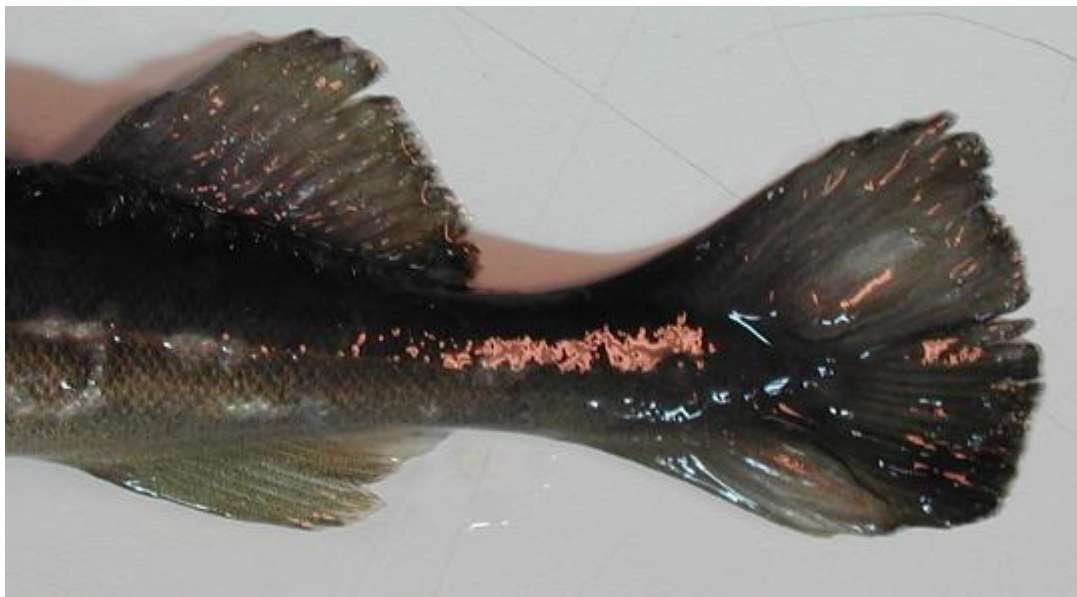
På fisken som døyde på dag 1 i 173 % O₂-gruppa vart det observert få eller ingen ytre endringar. Eit fåtal fiskar hadde munnen på vidt gap og gjellelokka utspilt. På dag 2 etter forsøksstart vart det observert gassblærer i finner og hud på nokre av dei døde fiskane i denne gruppa. Dei påfølgjande dagane auka desse observasjonane i omfang, både når det gjaldt antal dødfisk med blærer, og omfanget av blærer på fiskane som var råka.



Bilde 3.1 Død fisk frå 173 % O₂-gruppa med omfattande gassblærer i huden. Fisken døyde på dag 3 etter igangsetjing av oksygenbehandling.



Bilde 3.2 Gassblærer i ei ryggfinne hjå ein død fisk frå 173 % O₂-gruppa. Fisken døydde på dag 3 etter igangsetjing av oksygenbehandling.



Bilde 3.3 Omfattande gassblæredanning i bakre ryggfinne og halefinna til ein død fisk frå 173 % O₂-gruppa. Fisken døydde på dag 3 etter igangsetjing av oksygenbehandling.

Fire-fem dagar etter forsøksstart vart det også observert gassblærer i finnene på fisk i 145 % O₂-gruppa. Eit par dagar seinare vart det i samme gruppe også observert fisk med skader på eitt eller begge augo. Omfanget av slike observasjonar auka over tid. All dødfisk i 145 % O₂-gruppa hadde i større eller mindre grad gassblærer i hud og finner. Nokre hadde også skader på eitt eller begge augo.

Augeskadene omfatta hovudsakleg utståande augo (eksoftalmus) og forstørra augeeple (buftalmi), sistnemnde tilsynelatande på grunn av gassansamlingar intraokulært (i auga). Fiskane med forstørra augeeple hadde i mange tilfelle også gråfarga (blakka) hornhinne. På ein fisk i forsøket vart det observert blødning i auga, i tillegg til eksoftalmus. I eit par tilfelle var skadane så omfattande at fisken mista auga.



Bilde 3.4 Død fisk frå 145 % O₂-gruppa med omfattande gassblæredannelse i finner og hud. Fisken døydde på dag 18 etter igangsetjing av oksygenbehandling.



Bilde 3.5 Død fisk frå 145 % O₂-gruppa med ein del gassblærer i rygg-, hale- og gattfennene, i tillegg til moderat eksoftalmus. Fisken døydde på dag 23 etter igangsetjing av oksygenbehandling.

Mange av fiskane som fekk gassblærer i finner og/eller skader på augo levde med desse symptoma i lang tid. Ved lengde- og vektmålinga før overføring til FHL vart all fisk visuelt undersøkt for ytre kliniske teikn på gassovermetting. Det vart ikkje brukt hjelpemiddel som lupe eller mikroskop. Oversikt over omfanget av ytre kliniske teikn på gassovermetting i 145 % O₂-gruppa er gitt i tabell 3.4.

Tabell 3.4 Oversikt over antal og prosentandel fisk i 145 % O₂-gruppa med gassblærer/-skader i finner/hud og/eller i auge. Observasjonane er gjort i forbindelse med lengde- og vektmåling på dag 40 etter forsøksstart. Ingen tekniske hjelpemiddel som lupe eller mikroskop vart benytta.

Observasjon:	Antal fisk	Prosentandel
Ingen gassblærer/-skader	75	36 %
Gassblærer/-skade i finner, ikkje i auge	74	35 %
Gassblærer/-skade i auge, ikkje i finner/hud	10	5 %
Gassblærer/-skade i både finner/hud og auge	50	24 %
Sum:	209	100 %

Det var dei upara finnene (ryggfinnene, halefinna og gattfinnene) som var mest utsatt for gassblærer. På bryst- og bukfinnene var det kun få observasjonar av blærer.



Bilde 3.6 Fisk frå 145 % O₂-gruppa med eksoftalmus på begge auga. Bildet er teke under lengde- og vektmålinga på dag 40 etter igangsetjing av oksygenbehandling. Fisken levde og var bedøva då bildet vart teke.

På fisken i kontrollgruppa og i 118 % O₂-gruppa vart det ikkje observert gassblærer eller augeskader på noko tidspunkt.

På fisken som etter eksponeringsperioden vart overført til lagringskar på FHL (kontrollgruppa i smitteforsøket) såg det ut til at gassblærene i hud og finner i stor grad gjekk tilbake etter overføring til vatn med 76 % oksygenmetting. Eksoftalmus og gassansamling i auga verka også å gå noko tilbake, men blakka hornhinne vart observert på fleire individ. Ved avslutning av forsøket (dag 80) vart det observert ein del finneslitasje på fisk som i eksponeringsperioden

hadde utvikla gassblærer i finnene. Det vart imidlertid ikkje føreteke systematisk registrering av omfanget av desse skadane på dette tidspunktet.



Bilde 3.7 Fisk frå 145 % O₂-gruppa med augeskade (eksoftalmus og intraokulær gassansamling). Bildet er teke under lengde- og vektmålinga på dag 40 etter igangsetjing av oksygenbehandling. Fisken levde og var bedøva då bildet vart teke.



Bilde 3.8 Fisk frå 145 % O₂-gruppa med augeskade (eksoftalmus, intraokulær gassansamling og blakka hornhinne). Bildet er teke under lengde- og vektmålinga på dag 40 etter igangsetjing av oksygenbehandling. Fisken levde og var bedøva då bildet vart teke.

3.2.2 Andre observasjonar i eksponeringsperioden

I kara med 145 % oksygenmetting vart det danna ein film på vassoverflata. Det kunne sjå ut til at denne filmen skuldast slimproduksjon frå fisken.

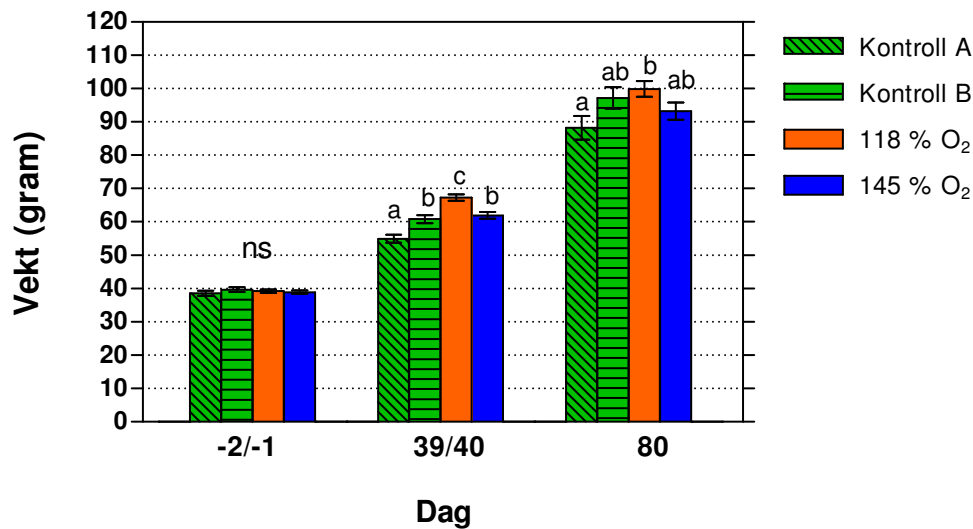
3.3 Vekst

Statistiske testar (einvegs ANOVA og Tukey-Kramer post hoc test) synte at veksten til fisken i dei to kontrollkara var signifikant forskjellig ($P < 0,05$). Det ville derfor vore feil å slå vekstdata frå desse kara saman. Vekstdata for dei to duplikata kara er derfor tekne med som ”kontroll A” og ”kontroll B”. For 145 % og 118 % O_2 -kara var det ingen signifikante forskjellar i vekst mellom duplikata ($P > 0,05$). Verdiane vart derfor slått saman.

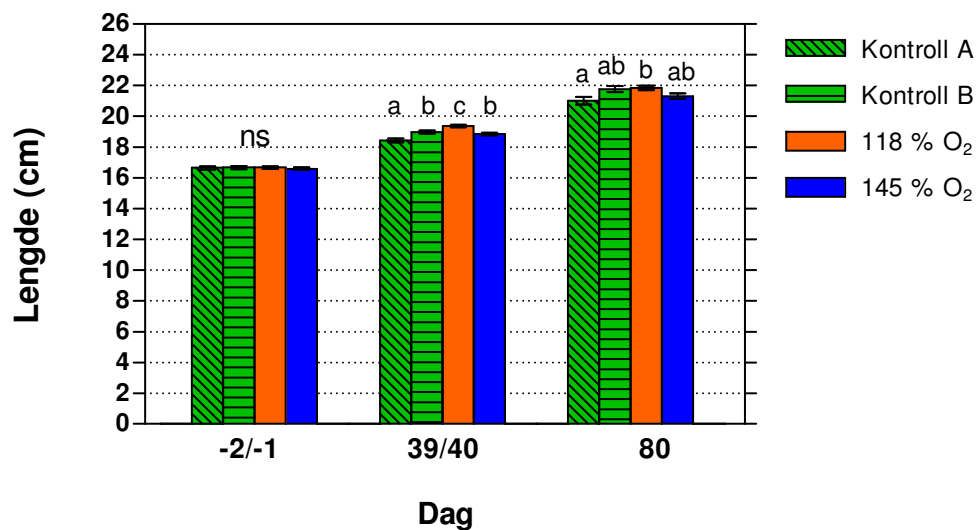
3.3.1 Lengde- og vektutvikling

Det var ingen signifikant forskjell mellom gruppene i lengde og vekt ved forsøksstart (figur 3.4 og 3.5). Alle gruppene hadde positiv lengde- og vektauke gjennom eksponeringsperioden. Ved prøvetakinga på dag 39 og 40 hadde 118 % O_2 -gruppa største lengde og vekt av alle gruppene. Mellom 145 % O_2 -gruppa og kontroll B-gruppa var det ingen signifikant forskjell. Kontroll A-gruppa hadde minste lengde og vekt.

På dag 80, 36 dagar etter overføring til FHL, hadde 118 % O_2 -gruppa framleis største gjennomsnittlege lengde og vekt, og kontroll A-gruppa minste. Det var kun mellom desse to gruppene forskjellen var statistisk signifikant.



Figur 3.4 Vektutvikling hjå torsken gjennom forsøket. Verdiane er gjennomsnitt \pm SE. Dag -2/-1 og 39/40 er tidspunkt for lengde- og vektmålingar rett før henholdsvis behandlingsstart og overføring til FHL. Lengde og vekt på fisken som ikkje vart smitta vart målt på dag 80 (avslutning av forsøket). Ulik bokstav over søylene indikerer signifikant forskjell ($P < 0,05$) mellom gruppene på det aktuelle tidspunktet. ns betyr ingen signifikant forskjell ($P > 0,05$).

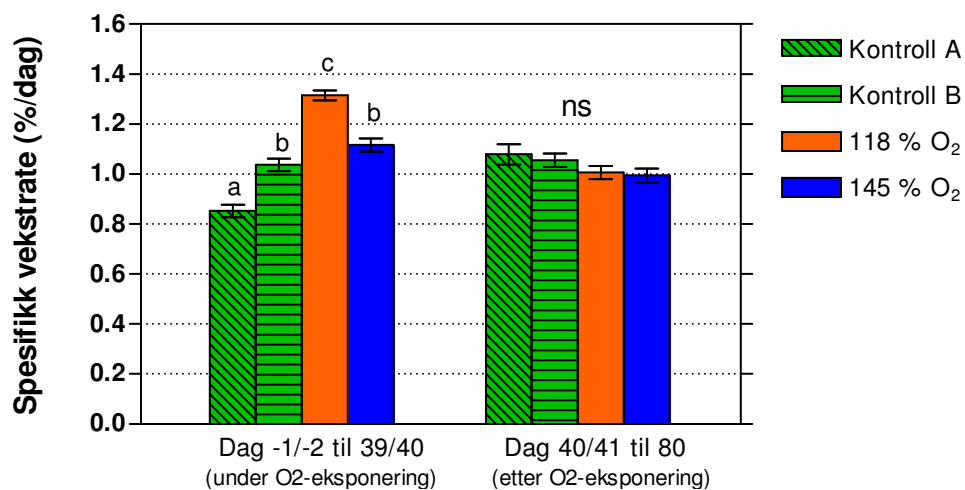


Figur 3.5 Lengdeutvikling hjå torsken gjennom forsøket. Verdiane er gjennomsnitt \pm SE. Dag -2/-1 og 39/40 er tidspunkt for lengde- og vektmålingar rett før henholdsvis behandlingsstart og overføring til FHL. Lengde og vekt på fisken som ikkje vart smitta vart målt på dag 80 (avslutning av forsøket). Ulik bokstav over søylene indikerer signifikant forskjell ($P < 0,05$) mellom gruppene på det aktuelle tidspunktet. ns betyr ingen signifikant forskjell ($P > 0,05$).

3.3.2 Spesifikk vekstrate

118 % O₂-gruppa hadde den høgaste spesifikke vekstraten i eksponeringsperioden, og kontroll A-gruppa hadde den lågaste (figur 3.6). Mellom 145 % O₂-gruppa og kontroll B-gruppa var det ingen signifikant forskjell.

I lagringsperioden på FHL var det ingen signifikant forskjell i spesifikk vekstrate mellom nokon av gruppene. Kontroll A-gruppa, hadde no høgast spesifikk vekstrate, med kontroll B-gruppa som nummer to.



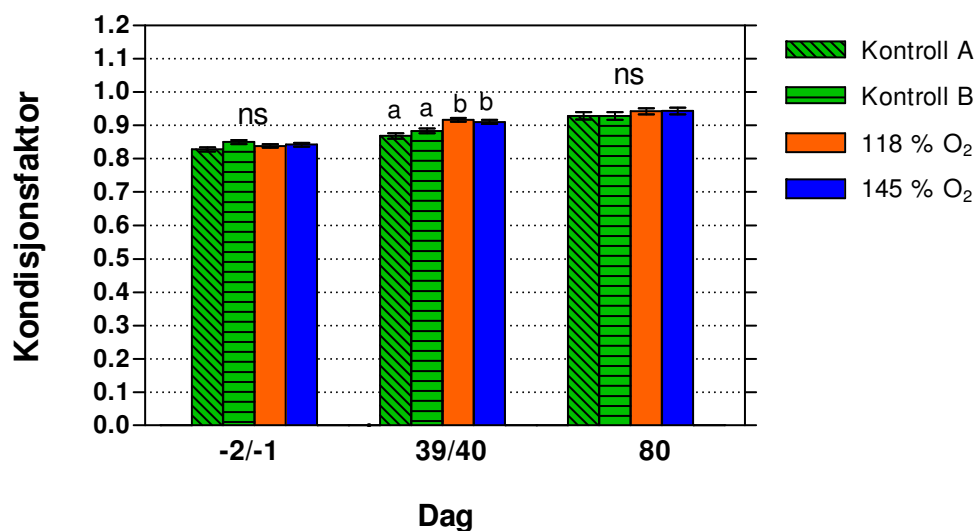
Figur 3.6 Spesifikk vekstrate hjå torskene under oksygeneksponeringsperioden (dag -1/-2 til dag 39/40 av forsøket) og etter oksygeneksponeringsperioden (dag 40/41 til dag 80 av forsøket).

Verdiane er gjennomsnitt ± SE.

Ulik bokstav over søylene indikerer signifikant forskjell ($P < 0,05$), ns betyr ingen signifikant forskjell ($P > 0,05$).

3.3.3 Kondisjonsfaktor

Det var ingen signifikant forskjell i kondisjonsfaktor mellom gruppene ved forsøksstart (fig.3.7). Den auka for alle gruppene i løpet av forsøket. I løpet av eksponeringsperioden auka den mest i gruppene med oksygenert vatn. På dag 80 hadde kontrollgruppene teke igjen dette forspranget, og kondisjonsfaktoren er igjen lik (ingen signifikant forskjell) for alle gruppene.



Figur 3.7 Utvikling i kondisjonsfaktor hjå torsken gjennom forsøket. Verdiane er gjennomsnitt \pm SE. Dag -2/-1 og 39/40 er tidspunkt for lengde- og vektmålingar rett før henholdsvis behandlingsstart og overføring til FHL. Lengde og vekt på fisken som ikkje vart smitta vart målt på dag 80 (avslutning av forsøket).

Ulik bokstav over søylene indikerer signifikant forskjell ($P < 0,05$) mellom gruppene på det aktuelle tidspunktet. ns betyr ingen signifikant forskjell ($P > 0,05$).

3.3.4 Størrelsesforskjell mellom død og overlevande fisk

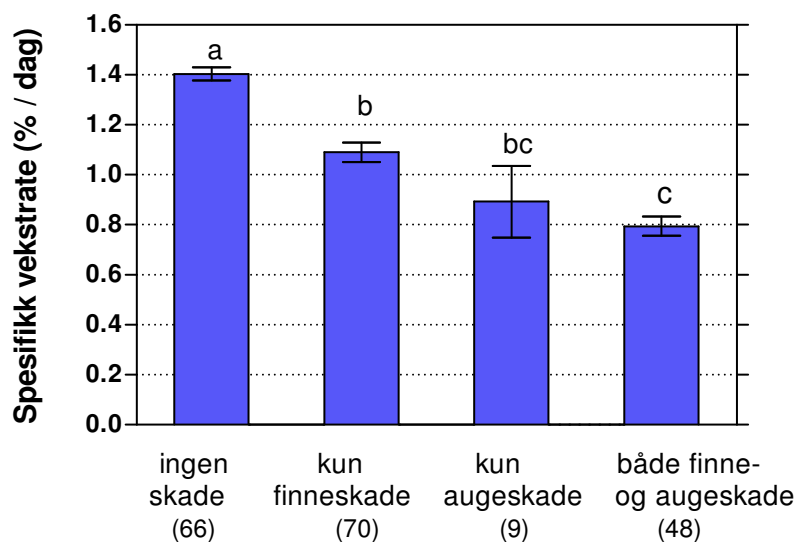
Det var ein tendens til at fisken som døydde i behandlingsperioden i gjennomsnitt var mindre enn fisken som ikkje døydde (tabell 3.5). Sidan det er svært store forskjellar i antal døde og overlevande individ er det ikkje gjort statistiske testar for å samanlikna desse.

Tabell 3.5. Gjennomsnittleg (\pm SE) lengde, vekt og kondisjonsfaktor hjå fisken som døydde og fisken som ikkje døydde i løpet av eksponeringsperioden. Antal fisk i parentes. Verdiane er frå lengde- og vektmålinga på dag -1 og -2 (rett før igangsetjing av oksygenbehandling).

Gruppe		Lengde (cm)	Vekt (g)	Kondisjonsfaktor
Kontroll A	Død (2)	15,2 \pm 0,3	27,5 \pm 1,0	0,78 \pm 0,02
	Ikkje død (118)	16,7 \pm 0,1	39,1 \pm 0,8	0,84 \pm 0,006
Kontroll B	Død (0)	---	---	---
	Ikkje død (118)	16,7 \pm 0,09	39,7 \pm 0,7	0,85 \pm 0,006
118 % O ₂	Død (2)	14,4 \pm 0,2	17,8 \pm 0,3	0,60 \pm 0,01
	Ikkje død (241)	16,6 \pm 0,07	39,0 \pm 0,5	0,84 \pm 0,005
145 % O ₂	Død (18)	16,5 \pm 0,3	35,1 \pm 2,2	0,77 \pm 0,02
	Ikkje død (221)	16,6 \pm 0,07	38,8 \pm 0,5	0,85 \pm 0,005

3.3.5 Samanlikning av vekstrate innad i 145 % O₂-gruppa

Fisk i 145 % O₂-gruppa som utvikla ytre kliniske teikn på gassovermetting vaks dårlegare i løpet av eksponeringsperioden enn fisk i samme gruppe utan slike symptom (figur 3.8). Fisk som hadde gassblærer i finner, men ingen skade på augo, hadde i snitt betre vekst enn fisk med skader på augo men ingen gassblærer i finnene. Dårlegast ut kom fisk som både hadde augeskade og gassblærer i finner. Merk at det er stor variasjon i antal fisk i dei ulike kategoriane¹.



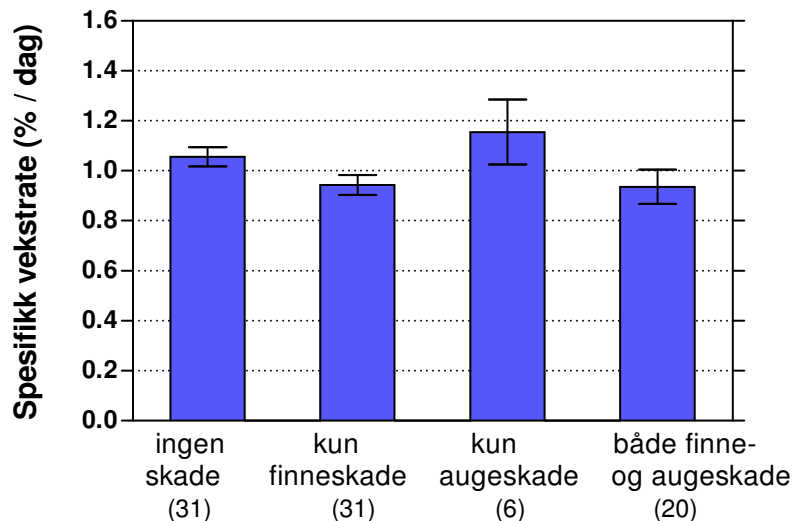
Figur 3.8 Samanlikning av spesifikk vekstrate (% / dag, \pm SE) i eksponeringsperioden mellom fisk i 145 % O₂-gruppa med ingen skade, kun finneskade, kun augeskade og både finne- og augeskade, sannsynlegvis forårsaka av gassovermetting i vatnet. Antal fisk per kategori i parentes. Ulik bokstav over søylene indikerer signifikant forskjell ($P < 0,05$).

Det var ved forsøksstart ingen signifikant forskjell i vekt, lengde eller kondisjonsfaktor mellom fisk som utvikla ytre kliniske teikn på gassovermetting og fisk som ikkje gjorde det.

Spesifikk vekstrate auka noko for fisk med augeskade, med eller utan finneskade, etter at fisken vart overført til FHL lager og normoksiske tilhøve (figur 3.9). Fisken som ved

¹ Data på SGR er her samanlikna med einvegs ANOVA med Tukey-Kramer post-hoc test. Ideelt sett bør talet på individ vera likt, eller nesten likt, mellom gruppene som skal samanliknast med desse testane. I dette tilfellet var det relativt stor variasjon i antal fisk i dei ulike kategoriane, og det er derfor knytta noko usikkerheit til resultatet av ANOVA og Tukey-Kramer.

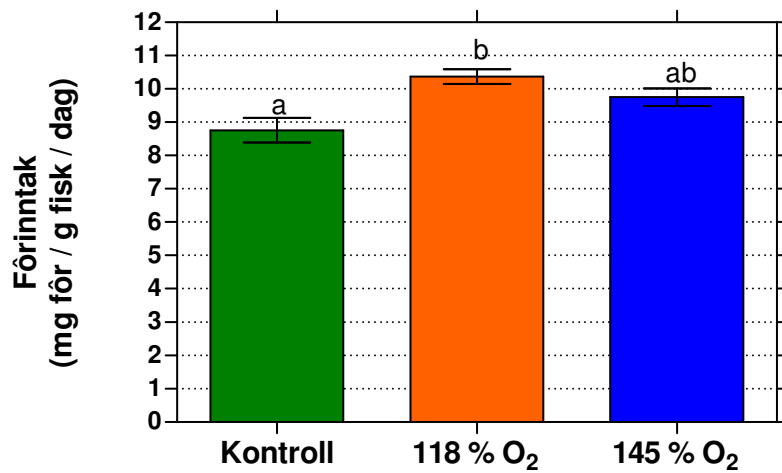
overføringstidspunktet ikkje hadde nokon synleg skade, eller kun finneskade, fekk derimot noko dårlegare vekst i denne perioden. Fisk med kun augeskade hadde i snitt best vekst, men forskjellen i vekstrate mellom dei fire kategoriane er ikkje statistisk signifikant ($P>0,05$).



Figur 3.9 Samanlikning av spesifikk vekstrate (% / dag, \pm SE) i lagringsperioden på FHL mellom torsk i 145 % O_2 -gruppa som ved overføring til FHL hadde anten ingen skade, kun finneskade, kun augeskade eller både finne- og augeskade, sannsynlegvis forårsaka av gassovermetting i vatnet i eksponeringsperioden. Antal fisk per kategori i parentes. Det var i denne perioden ingen signifikant forskjell i vekstrate mellom dei fire kategoriane ($P>0,05$). Fisken gjekk i denne perioden ved normoksiske tilhøve (70-80 % O_2 -metting). Gruppenamnet ("145 % O_2 -gruppa") viser til den forutgåande O_2 -mettinga (eksponeringsperioden).

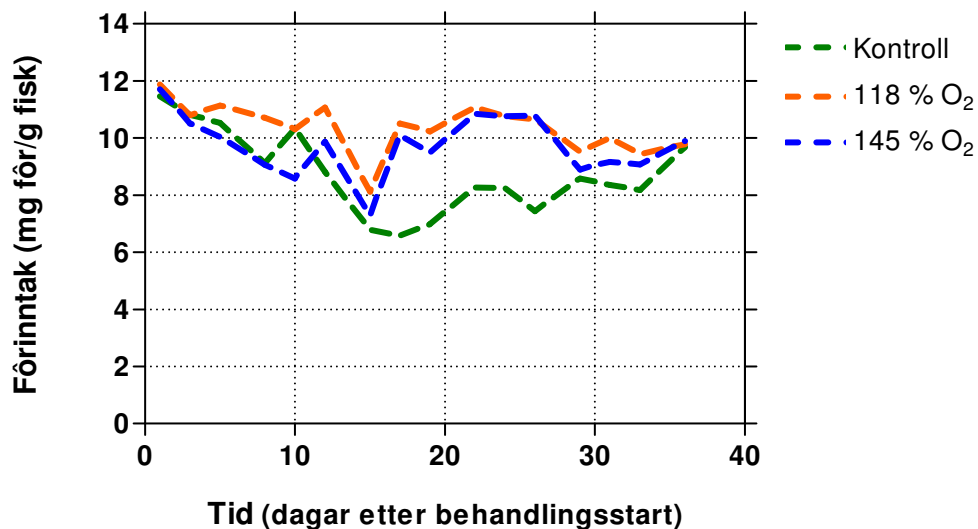
3.4 Fôrinntak i eksponeringsperioden

118 % O_2 -gruppa hadde det høgaste gjennomsnittlege fôrinntaket i eksponeringsperioden (figur 3.10). Kontrollgruppa hadde det lågaste fôrinntaket. Det var kun mellom desse to gruppene forskjellen var statistisk signifikant.



Figur 3.10 Gjennomsnittleg fôrinntak (mg fôr / g fisk / dag, \pm SE) i eksponeringsperioden. Ulik bokstav over søylene indikerer signifikant forskjell.

Dei tre gruppene hadde relativt likt fôrinntak i starten av eksponeringsperioden (figur 3.11). Med tid gjekk fôrinntaket nedover for alle gruppene. Det er ein markant dropp i fôrinntak mellom dag 12 og 15 (dag 10-15 for kontrollgruppa). Det er usikkert kva dette skuldast. 118 % og 145 % O₂-gruppene klarar å henta inn denne droppen ganske raskt, medan kontrollgruppa lenge ligg langt under dei to andre gruppene i fôrinntak.



Figur 3.11 Fôrinntak (mg fôr / g fisk) hjå fisken, utvikling over tid i eksponeringsperioden.

3.5 Blodverdier

Ulikt oksygenivå i vatnet (behandling) gav signifikante forskjellar på pH-verdien og klorid-, urea-, CO₂- og HCO₃⁻ -nivået i blodet hjå torsken (tabell 3.6). Kloridnivået var noko høgare i kontrollgruppa enn i behandlingsgruppene, men det var kun mellom 145 % O₂-gruppa og kontrollgruppa at forskjellen var statistisk signifikant, og kun på dag 38 (tabell 7.12).

TCO₂ og pCO₂-nivået var høgast for fisk i 145 % O₂-gruppa og lågast i kontrollgruppa. For TCO₂ var forskjellen signifikant mellom alle tre grupper på begge tidspunkt (tabell 7.15), medan det for pCO₂ var signifikant forskjell kun mellom 145 % O₂-gruppa og kontrollgruppa på dag 17, og mellom kontrollgruppa og dei to behandlingsgruppene på dag 38 (tabell 7.16). Behandlingsgruppene hadde høgare pH-nivå i blodet både på dag 17 og 38, men det var kun på dag 38 at forskjellen var statistisk signifikant (tabell 7.14).

For kalium og glukose var det signifikant interaksjon mellom tid og behandling, og vidare analyse (Tukey-Kramer) vart derfor ikkje gjort.

3.5.1 Kjønn og modning

Totalt vart 80 fisk tekne ut til blodprøver. Alle desse vart obdusert og modningsgrad og kjønn undersøkt. På modningsskalaen (avsnitt 2.2.2) fekk 37 fisk score 0 (heilt umoden), 27 score 1 (umoden) og 16 score 2 (begynnande modning). 40 vart kjønnsbestemt til å vera hofisk, og 14 til å vera hannfisk. 26 fisk kunne ikkje kjønnsbestemast, då gonadane var for umodne.

Tabell 3.6 Blodparametrar målt i eksponeringsperioden. Analysen er gjort med i-STAT-apparat på heilblod, med unntak av Cl⁻ som er gjort med Corning 925-kloridmålingsapparat på blodplasma. Verdiane er gjennomsnitt ± SE. Tal i parentes = n. Dag -3 er før forsøksstart og verdiane i kvar parameter er gjennomsnittet av ein blodprøve frå kvart kar. Desse verdiane er ikkje med i den statistiske analysen (tovegs ANOVA).

Gruppe	Dag	Cl ⁻ (mmol/l)	Na ⁺ (mmol/l)	K ⁺ (mmol/l)	Urea (mmol/l)	Glukose (mg/dl)	pH	TCO ₂ (mmol/l)	pCO ₂ (mmHg)	HCO ₃ ⁻ (mmol/l)	Hemoglobin (g/dl)	Hematokrit (%)
Alle grupper	-3	149,0 ± 1,5 (3)	139,3 ± 6,7 (6)	6,4 ± 0,4 (6)	1,5 ± 0,2 (6)	122,5 ± 24,3 (6)	7,19 ± 0,02 (6)	5,7 ± 0,3 (6)	14,0 ± 0,8 (6)	5,3 ± 0,3 (6)	4,5 ± 0,5 (2)	12,5 ± 1,5 (2)
145 % O₂	17	142,2 ± 2,4 (11)	150,4 ± 1,5 (12)	6,7 ± 0,3 (11)	2,7 ± 0,2 (12)	65,8 ± 7,6 (12)	7,04 ± 0,03 (12)	11,0 ± 0,5 (12)	37,7 ± 3,0 (12)	10,0 ± 0,4 (12)	4,8 ± 0,3 (8)	14,1 ± 0,9 (8)
	38	143,4 ± 1,9 (11)	150,4 ± 2,1 (11)	5,6 ± 0,2 (11)	2,2 ± 0,2 (11)	100,8 ± 15,4 (9)	7,09 ± 0,01 (11)	12,0 ± 0,5 (11)	37,2 ± 2,3 (11)	11,0 ± 0,5 (11)	5,3 ± 0,6 (6)	15,6 ± 1,6 (7)
118 % O₂	17	143,6 ± 3,3 (10)	146,5 ± 4,4 (8)	6,4 ± 0,3 (7)	2,2 ± 0,2 (8)	52,5 ± 10,3 (8)	7,04 ± 0,02 (8)	8,9 ± 0,4 (8)	30,4 ± 2,3 (8)	8,1 ± 0,4 (8)	5,2 ± 0,6 (5)	14,4 ± 0,7 (5)
	38	146,3 ± 1,7 (11)	151,7 ± 2,5 (12)	6,2 ± 0,3 (11)	2,2 ± 0,2 (12)	73,1 ± 10,8 (12)	7,00 ± 0,02 (12)	9,6 ± 0,5 (12)	34,0 ± 2,0 (12)	8,4 ± 0,4 (12)	5,7 ± 0,3 (9)	15,2 ± 1,0 (11)
Kontroll	17	150,1 ± 1,7 (12)	149,5 ± 2,2 (11)	7,1 ± 0,3 (10)	1,8 ± 0,2 (11)	73,6 ± 8,4 (12)	6,98 ± 0,03 (12)	6,5 ± 0,3 (12)	24,5 ± 1,9 (12)	5,8 ± 0,3 (12)	5,3 ± 0,6 (7)	15,6 ± 1,4 (7)
	38	151,8 ± 2,5 (12)	153,7 ± 2,0 (9)	6,9 ± 0,2 (9)	2,1 ± 0,2 (9)	45,1 ± 12,4 (9)	6,92 ± 0,02 (9)	5,8 ± 0,4 (9)	24,8 ± 1,3 (9)	5,1 ± 0,3 (9)	5,1 ± 0,5 (7)	15,3 ± 1,1 (7)

Tovegs ANOVA

Tid	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Behandling	**	ns	ns	*	ns	***	***	***	***	***	ns	ns
Tid x behandling	ns	ns	**	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Symbola for tovegs ANOVA har følgjande betydning: ns = ingen signifikante forskjellar (P>0.05), * = P< 0.05, ** = P<0.01, *** = P<0.001.

3.6 Smitte med *Listonella anguillarum*

3.6.1 Presmitteforsøk

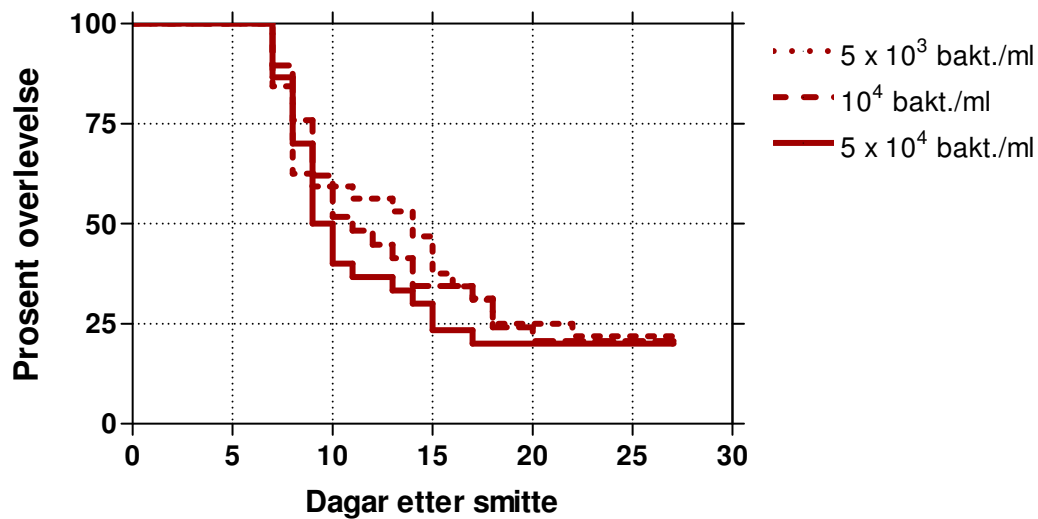
For å titrera bakteriekonsentrasjonen til hovudforsøket, vart det i presmitteforsøket brukt tre ulike konsentrasjonar: 5×10^4 , 10^4 og 5×10^3 bakteriar/ml. Bakteriekonsentrasjonen er berekna utifrå optisk tettheit ved 600 nm (OD_{600nm}), der OD_{600nm} tilsvarer 1×10^9 bakteriar/ml. Sidan OD-målingar ikkje skil mellom levande og døde bakteriar, vart det også gjort kimtalsutplating av bakteriekulturen.

Retten før igangsetjing av badsmitten vart bakteriekulturen undersøkt i mikroskop. Kulturen såg ut til å vera rein og homogen, og besto av bevegelege bønneforma bakteriar.

3.6.2 Dødelegheit i presmitteforsøket

Dødelegheita i presmitteforsøket tok til 7 dagar etter smitte for alle tre bakteriekonsentrasjonane (figur 3.12). Det var ein liten tendens til raskare dødelegheit med aukande konsentrasjon. Men overlevelseskurvene (figur 3.12) var ikkje signifikant forskjellige, og akkumulert dødelegheit var om lag lik. (tabell 3.7).

På eit utval dødfisk vart det føreteke utstryk frå fornyra. *L. anguillarum* vart påvist i fornyra hjå all dødfisk i utvalet.



Figur 3.12. Overlevelse (%) i presmitteforsøket, der tre grupper av torsk vart badsmitta med ulike konsentrasjonar av bakterien *L. anguillarum*.

Tabell 3.7. Bakteriekonsentrasjon, kimtal, akkumulert dødelegheit og dag for 50 % dødelegheit for gruppene i presmitteforsøket.

Bakteriekonsentrasjon		Akkumulert dødelegheit	Dag for 50 % dødelegheit
(bakt./ml)	(cfu/ml)		
5×10^3	$2,6 \times 10^3$	78,1 %	14
10^4	$5,2 \times 10^3$	79,3 %	11
5×10^4	$2,6 \times 10^4$	80,0 %	9,5

3.6.3 Smitte av behandlingsgrupper

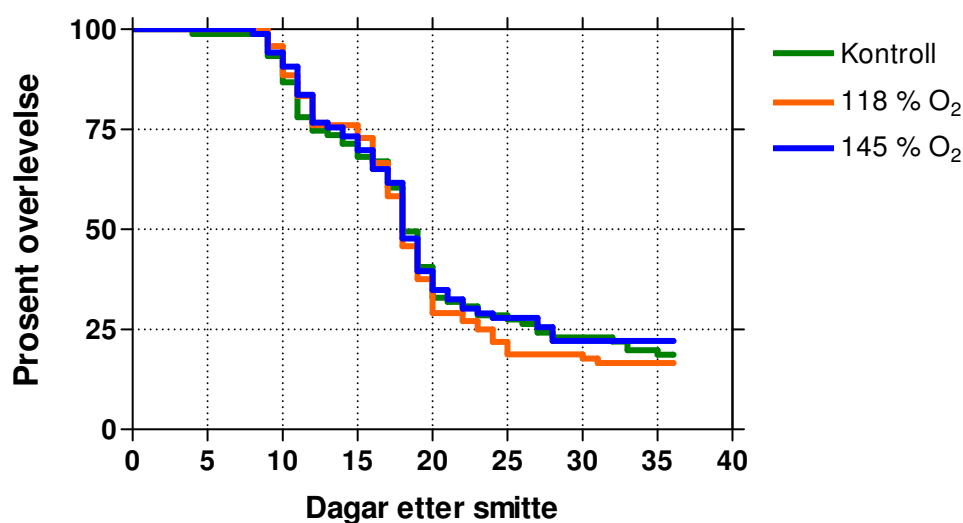
Retten før igangsettning av badsmitten vart bakteriekulturen undersøkt i mikroskop. Kulturen såg ut til å vera rein og homogen, og besto av bevegelege bønneforma bakteriar.

Basert på reultata frå presmitteforsøket vart det valgt å bruka ein bakteriekonsentrasjon på 3×10^3 bakteriar/ml berekna frå OD_{600nm} . Utifrå kintalsutplatinga vart den bestemt til $1,7 \times 10^3$ cfu/ml.

3.6.4 Dødelegheit i smitteforsøket

Dødelegheita tok til for alvor på dag 9 for alle behandlingsgruppene (figur 3.13). Forsøket vart avslutta 36 dagar etter smitte. Overlevelseskurvene (figur 3.13) til dei tre gruppene er ikkje signifikant forskjellige.

På eit utval dødfisk vart det føreteke utstryk frå fornyra. *L. anguillarum* vart påvist i fornyra hjå all dødfisk i utvalet.



Figur 3.13. Overlevelse (%) etter smitte med *L. anguillarum*. I smitteforsøksperioden gjekk fisken under normoksiske forhold (78-79 % O₂-metting). Gruppenamna "118 % O₂" og "145 % O₂" viser til oksygenmettinga i eksponeringsperioden.

Tabell 3.8. Oversikt over akkumulert dødelegheit og dag for 50 % dødelegheit for behandlingsgruppene etter smitte med *L. anguillarum*.

Gruppe	Akkumulert dødelegheit	Dag for 50 % dødelegheit
145 % O ₂ *	77,9 %	18
118 % O ₂ *	83,3 %	18
Kontroll	81,3 %	18

* O₂-metting i eksponeringsperioden

3.6.5 Vasskvalitet under smitteforsøket

Oksygenmettinga var i snitt 78,9 % og 73,6 % for henholdsvis smittegruppa og kontrollgruppa. Temperaturen var i snitt 9,9 °C og 9,7 °C for dei same gruppene.

Tabell 3.9. O₂-metting og temperatur i smitteforsøket. Verdiane er gjennomsnitt (±SD) av 5 målingar i smitteforsøksperioden.

Kar ved FHL	Oksygenmetting (% ± SD)	Temperatur (°C ± SD)
Smitte A	79,0 ± 5,3	9,8 ± 0,3
Smitte B	78,8 ± 4,8	9,9 ± 0,05
Lager A	71,8 ± 3,8	9,7 ± 0,3
Lager B	75,3 ± 3,0	9,7 ± 0,4

3.6.6 Størrelsesforskjell mellom død og overlevende fisk

Innad i enkelte behandlingsgrupper kunne det sjå ut til vera ein tendens til størrelsesforskjell mellom fisk som døydde og fisk som overlevde smitteforsøket (tabell 3.10). Men dersom ein ser alle grupper under eitt (tabell 3.10, nederste rader) var det ingen signifikant forskjell mellom vekt, kondisjonsfaktor og vekstrate i eksponeringsperioden og dødelegheit i smitteforsøket.

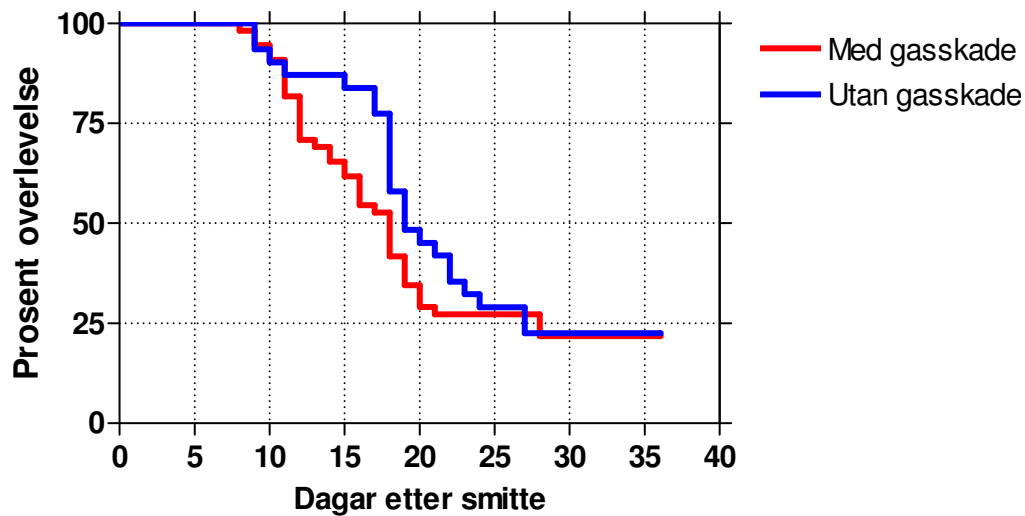
Tabell 3.10. Oversikt over gjennomsnittleg (\pm SE) lengde, vekt, kondisjonsfaktor (k-faktor) og spesifikk vekstrate (SGR) hjå fisken som døydde og ikkje døydde etter smitte med *Listonella anguillarum*, fordelt på gruppe (forutgåande oksygenbehandling) og totalt (radene merka med "Alle grupper").

Gruppe*		Ved forsøksstart (dag -2/-1)		Før overføring FHL (dag 39/40)		Dag -2/-1 til 39/40
		Vekt (g)	Kondisjonsfaktor	Vekt (g)	Kondisjonsfaktor	SGR
Kontroll A	Død (38)	38,2 \pm 1,1	0,83 \pm 0,01	54,4 \pm 1,8	0,86 \pm 0,02	0,85 \pm 0,05
	Ikkje død (9)	34,9 \pm 2,3	0,80 \pm 0,01	52,3 \pm 3,2	0,85 \pm 0,02	0,99 \pm 0,09
Kontroll B	Død (36)	39,6 \pm 1,4	0,84 \pm 0,01	60,4 \pm 2,3	0,88 \pm 0,01	1,02 \pm 0,03
	Ikkje død (8)	34,9 \pm 1,0	0,83 \pm 0,02	52,9 \pm 2,3	0,85 \pm 0,03	1,01 \pm 0,07
118 % O ₂	Død (80)	39,2 \pm 0,9	0,84 \pm 0,008	67,8 \pm 1,7	0,92 \pm 0,008	1,33 \pm 0,03
	Ikkje død (16)	42,4 \pm 2,0	0,85 \pm 0,02	76,8 \pm 3,7	0,96 \pm 0,02	1,45 \pm 0,05
145 % O ₂	Død (67)	39,2 \pm 0,8	0,86 \pm 0,008	62,3 \pm 1,6	0,92 \pm 0,009	1,11 \pm 0,05
	Ikkje død (19)	38,2 \pm 1,4	0,86 \pm 0,02	62,8 \pm 2,7	0,94 \pm 0,02	1,20 \pm 0,08
Alle grupper	Død (221)	39,1 \pm 0,5	0,84 \pm 0,05	62,6 \pm 1,0	0,90 \pm 0,005	1,13 \pm 0,02
	Ikkje død (52)	38,4 \pm 1,0	0,84 \pm 0,009	63,8 \pm 2,1	0,92 \pm 0,01	1,21 \pm 0,04

* I smitteforsøksperioden gjekk fisken under normoksiske forhold (78-79 % O₂-metting). Gruppenamna 145 % O₂ og 118 % O₂ viser til oksygenmettinga i eksponeringsperioden forut for smitteforsøket.

3.6.7 Samanlikning av dødelegheit etter smitte innad i 145 % O₂-gruppa

Det var ein tendens til at dei individa i 145 % O₂-gruppa som i eksponeringsperioden utvikla ytre kliniske teikn på gassovermetting døydde noko raskare etter smitte enn fisk i samme gruppe som ikkje utvikla slike teikn (figur 3.14). Overlevelseskurvene var imidlertid ikkje signifikant forskjellige, og akkumulert dødelegheit var lik (78,2 % for fisk med gasskade og 77,4 % for fisk utan gasskade).



Figur 3.14. Overlevelse (%) etter smitte med *L. anguillarum* for torsk med (n = 55) og utan (n = 31) ytre kliniske teikn på gassovermetting ("gasskade") etter eksponering for 145 % O₂-metting forut for smitteforsøket.

4 Diskusjon

4.1 Drøfting av forsøksbetingelsar

Føremålet med dette forsøket var å undersøkje kva slags effekt hyperbarisk hyperoksi har på helse og vekst hjå torsk. For å unngå at andre miljøfaktorar påverka resultata, måtte vasskvaliteten (utanom oksygen- og totalgassmettinga) haldast så lik som mulig mellom kara. I tillegg var det viktig at vasskvaliteten var optimal, slik at ikkje andre vasskvalitetsfaktorar påverka resultata. For å utelukka at andre verdiar enn oksygen- og totalgassmettinga kunne påverka resultata var det viktig å dokumentera vasskvaliteten undervegs i forsøket.

Alle kara fekk vatn frå samme vassforsyning (figur 2.3). Den einaste forskjellen som vart gjort i vassbehandling mellom gruppene, var tilsetjing av oksygen. Ein må derfor kunna anta at kvaliteten på innløpsvatnet (utanom oksygen- og totalgassmettinga) var lik mellom kara.

Oksygenmettinga vart nøye overvaka, og var stabil over tid i eksponeringsperioden (figur 3.10). Totalgassmettinga vart målt manuelt fordi utstyr til automatisk måling ikkje var tilgjengeleg. Målingane vart utført med Weiss saturometer, som er ein relativt tidkrevjande metode. Ideelt sett burde desse målingane vore gjort hyppigare. Men sidan totalgassmettinga og oksygenmettinga ser ut til å henga tett saman, er det grunn til å tru at verdiane i tabell 3.2 gir eit rimeleg bra inntrykk av totalgassmettinga gjennom eksponeringsperioden.

Nitrogenmettinga vart rekna ut frå totalgassmettinga og oksygenmettinga. Som beskrive i kapittel 2.2.1 vart det brukt ulike oksygenmålarar ved dei daglege oksygenmålingane og totalgassmettingsmålingane. Den handhaldne målaren som vart brukt i sistnemnde tilfelle synte jamt over noko høgare verdiar. Dette medfører at nitrogenmettingsverdiane kan vera noko underestimerte.

Temperaturen vart målt dagleg i eksponeringsperioden og varierte svært lite mellom kara (figur 3.2). Den endra seg noko over tid på grunn av variasjon i sjøvasstemperaturen. Desse endringane var imidlertid små og skjedde gradvis, og har derfor neppe påverka resultata.

Fisken vart fôra i overskot gjennom heile eksponeringsperioden. Ved fôrinntaksmålingane tre gonger per veke var det alltid fôrspill i fôroppsamalarane. Fôrmengda har derfor neppe vore nokon begrensande faktor for veksten.

Mellom dei duplikate kontrollkara var det signifikante forskjellar i lengde- og vektutvikling og vekstrate (figur 3.4, 3.5 og 3.6). Slike kareffektar let seg ikkje alltid så lett forklara, men er som oftast resultat av ei eller anna form for stress (Brattelid, 1999). Ofte vil karet si plassering i rommet ha innverknad. Karet som står nærast døra vil som regel bli hyppigare forstyrra enn kara lenger inn i rommet. I dette forsøket var det imidlertid kontrollkar B, det av kontrollkara som hadde best vekst, som var plassert nærmast døra. Ei tenkjeleg forklaring kan vera at fisken i kontroll B blei vant til dei hyppige forstyrrelsane og derfor ikkje reagerte så sterkt. Fisken i kontrollkar A (og kanskje samtlege av dei andre kara) vart sjeldnare forstyrra, og kan derfor ha fått desto kraftigare stressreaksjonar når dei først vart uroa.

Når det gjeld tettheit av fisk, gir litteraturen ingen eintydige svar på korleis dette påverkar tilveksten til torsk. Björnsson & Ólafsdóttir (2006) fann at torsk i størrelsen 37-225 gram ved 10 °C kan haldast i tettheiter opp mot 50 kg/m³ utan at vekstraten blir redusert, gitt at vasskvaliteten er akseptabel. Karlsen (2002) viser til forsøk der veksten til torsk vart redusert ved tettheit over 10 kg/m³ i kar, medan tettheiter opp mot 20 kg/m³ i merder ikkje reduserte veksten. I vårt forsøk varierte fisketettheita i kara frå 11,1 kg/m³ i byrjinga av eksponeringsperioden til 24,0 kg/m³ på kontrollfisken ved avslutning av smitteforsøket (dag 80). Sannsynlegvis kan ein anta at tettheita ikkje har vore særleg begrensande for tilveksten til torsken, og dersom den har vore det, har det i så fall vore relativt likt for alle gruppene.

I gjennomstrøymingsanlegg med oksygentilsetjing er det ikkje fisken sitt oksygenforbruk som bestemmer vassbehovet, men derimot kravet om fortykning og borttransport av avfallsstoff. Dette er stoff som produserast av fisken i karet, eller som er følgje av fôrspill. Stoffa det dreiar seg om er ammonium/ammoniakk (NH₄⁺/NH₃), karbondioksid (CO₂) og løyst og partikulært organisk stoff (Gebauer, 1992). Wedemeyer (1997) anbefaler å halda CO₂ under 5-10 mg/l og NH₃ under 0,02 mg/l. Verdiane målt i forsøket ligg lågt i forhold til anbefalingane, høgaste verdiar var henholdsvis 2,9 mg/l, (CO₂) og 0,00345 mg/l (NH₃) (tabell 3.3). Ammoniakknivået var signifikant høgare i 145 % O₂-gruppa samanlikna med kontrollgruppa (tabell 3.3), som sannsynlegvis heng saman med at 145 % O₂-gruppa hadde høgare fôrinntak

og betre vekst. For dei andre vasskvalitetsparametrane var det ingen signifikante forskjellar mellom gruppene.

Det er vanskeleg å sjå at andre faktorar skal ha påverka resultatet nemneverdig. Det er derfor grunn til å tru at forskjellane i vekst og helse mellom gruppene skuldast ulik oksygen- og totalgassmetting i vatnet.

4.2 Drøfting av resultat

4.2.1 Vekst i og etter eksponeringsperioden

Resultata syner at ulik oksygenmetting i vatnet påverkar veksten til torsken. 118 % oksygengruppa hadde i eksponeringsperioden høgare spesifikk vekstrate og større lengde- og vektauke enn dei andre gruppene, og høgare kondisjonsfaktor enn kontrollgruppene (figur 3.4, 3.5 og 3.6). Data frå fôrinntaksmålingane syner samme trend som vekstparametrane, 118 % oksygengruppa hadde det høgaste fôrinntaket og kontrollgruppa det minste (figur 3.10 og 3.11).

Kontrollgruppene hadde dårlegast vekst i eksponeringsperioden. Chabot & Dutil (1999) fann at torsk på 500-600 gram fekk redusert vekst ved 73 % oksygenmetting. I periodar var oksygenmettinga i vårt forsøk noko lågare enn dette. Dette kan bety at fisken i kontrollgruppa kanskje ikkje hadde optimal vekst gjennom eksponeringsperioden. For å gje eit betre samanlikningsgrunnlag for kor god vekst 118 % - gruppa faktisk hadde, kunne det vore interessant å ha ei gruppe ved 100 % oksygenmetting. Ut frå veksten i den gruppa kunne ein kanskje seia noko om veksten ved 118 % oksygenmetting var optimal eller om dette oksygenivået var over det optimale for torsk.

145 % oksygengruppa hadde betre vekst enn kontrollgruppa, men redusert vekst samanlikna med 118 % gruppa. Dette indikerer at 145 % oksygen er for høgt i forhold til optimal oksygenverdi. Men årsaka til reduksjon i vekst kan også ha samband med problematikken kring total gassovermetting og gassblæresykje i gruppa.

Kontrollgruppe A hadde dårlegast vekst i eksponeringsperioden. I perioden etter eksponering (dag 41-80) hadde denne gruppa den beste vekstraten (figur 3.6), tett fulgt av kontrollgruppe B. Forskjellen i vekstrate var imidlertid ikkje signifikant mellom gruppene i denne perioden. For både 145 % - og 118 % - gruppene var det nedgang i vekstrate i denne perioden.

Innad i 145 % oksygengruppa var det ein klar tendens til at fisk som utvikla symptom på gassblæresykje hadde dårlegare vekst i eksponeringsperioden enn fisk utan slike teikn (figur 3.8). Det er vanskeleg å avgjera om denne fisken voks dårlegare på grunn av desse symptoma, eller om dette i utgangspunktet var dei svakaste individa i gruppa, som både voks dårlegast og hadde lettast for å utvikla gassblæresykje. Den lågaste vekstraten var hjå torsk med augeskade. Det er mulig at svekka syn kan ha bidrege til at desse individa har fått i seg mindre fôr enn dei andre i gruppa. I perioden etter eksponering jamna forskjellane seg ut (figur 3.9). Fisk med augeskade fekk i denne perioden forbetra vekstrate, medan vekstraten i gruppa totalt sett gjekk ned (figur 3.6). Dersom nedsatt fôrinntak på grunn av svekka syn er forklaringa på at desse individa voks dårlegare i eksponeringsperioden, kan det tyda på at augeskader som følgje av gassovermetting til ein viss grad kan lækjast etter at fisken blir tilbydd vatn med normale oksygenivå.

4.2.2 Helse og fysiologi eksponeringsperioden

Funn av gassblærer i hud og finner på fisk frå 173 % O₂- og 145 % O₂ tyder på at gassblæresykje har oppstått. Bobler eller blærer under huden, primært mellom finnestrålane, er eit hyppig rapportert teikn på gassblæresykje hjå fisk (Weitkamp & Katz, 1980).

Gassblæresykje er av Bouck (1980) definert som ein ikkje-infeksiøs, fysisk framkalla prosess, forårsaka av ukompensert hyperbarisk trykk av totale løyste gassar. Dei løyste gassane kan danna emboli (blodpropp) i blodet og emfysem (gassblærer) i vev. For juvenil laksefisk er dei første ytre teikna på gassblæresykje små blærer langs sidelinja (Weitkamp & Katz, 1980).

Desse blærene er små og vanskelege å oppdaga utan erfaring. Huda på hovudet og langs munnen vert også ofte råka av gassblærer, og hjå laksefisk førekjem gassblærer også i ganen (Weitkamp & Katz, 1980). I vårt forsøk vart blærer i finnene hyppig observert både på død og overlevande fisk, medan blærer i huden på hovudet nesten utelukkande vart observert på

død fisk. Munnhola vart ikkje undersøkt. Det vart ikkje observert gassblærer langs sidelinja til torsken, men dette området vart heller ikkje nøyare undersøkt enn noko anna område på kroppen.

Eksoftalmus er eit symptom som ofte vert forbunde med gassblæresykje (Weitkamp & Katz, 1980), særleg ved kroniske forløp. Området bak auga har svært rikeleg blodforsyning (plexus choroideus) og mykje laust bindevev for å gje auga god bevegelegheit (Poppe, 1999). Ved gassovermetting i blodet vil gassbobler kunna fellast ut i det lause vevet, og pressa augeeplet utover. I mange tilfelle av gassblæresykje vil eksoftalmus vera fråverande, eller berre finnast på eit fåtal av fisken. Fråver av dette symptomet er derfor ikkje eit teikn på at gassblæresykje ikkje førekjem (Weitkamp & Katz, 1980). I tillegg er dette eit svært uspesifikt symptom som kan ha mange andre årsaker, for eksempel infeksjon med mikroorganismar (Poppe, 1999), eller mangel på enkelte næringsstoff og vitaminar (Waagbø, 1999). I dette forsøket vart eksoftalmus kun observert på fisk i 173 % og 145 % O₂-gruppene, noko som støttar opp om at det var forårsaka av gassovermetting.

Forstørra augeeple såg ut til å vera forårsaka av gass, mest sannsynleg utfelt frå plexus choroideus. Blakking av hornhinna kan skuldast at sjølve hornhinna er strekt (i dette tilfellet var den det på grunn av den intraokulære gassansamlinga), med sekundær svikt i pumpefunksjonen i endotelcellene, som er dei innerste hornhinnecellene mot fremre augekammer. Men blakking av hornhinna kan også ha andre årsaker, som intraokulær inflammasjon (betennelse) og/eller hornhinnebetennelse (keratitt). (E. Bjerkaas², pers. medd.). Blødning i auga vart observert på ein fisk i 145 % O₂-gruppa. Gassblærer i plexus choroideus kan forårsaka blødningar og løsna netthinne (retina) hjå laksefisk (Weitkamp & Katz, 1980). Sannsynlegvis kan blødninga observert i dette forsøket ha samme årsak, spesielt sidan den aktuelle fisken også hadde eksoftalmus. Men sidan det ikkje vart gjort histopatologisk analyse av nokon fisk i dette forsøket, kan det ikkje seiast noko sikkert om mekanismane bak augeskadane og diskusjonen omkring dei observerte augeskadene baserer seg derfor på teori/litteratur og bildematerialet som vart presentert i resultatkapittelet.

I 145 % O₂ gruppa vart det observert ein film i vassoverflata. Dette stemmer overeins med andre rapporterte funn. Hjå laks eksponert for 150 – 170 % oksygenmetting danna det seg ein

² Ellen Bjerkaas, professor, Norges veterinærhøgskole

film av biologisk materiale på vassoverflata (Stefansson *et.al*, 2006). På samme tid vart det også observert gassblærer på laksen. Analyser av denne filmen synte spor etter bakteriar, amøber, sopphyfer, skjell og leukocyttar, som indikerer at hudskader hjå eksponert fisk gir avstøyting av organisk materiale, som igjen kan gje grobotn for mikroorganismar. I vårt forsøk vart det ikkje utført analyser av denne filmen, men det er tenkjeleg at liknande funn kunne ha blitt gjort dersom filmen vart analysert.

Årsaka til at fisk døyr av gassovermetting er hovudsakleg at gassblærer (gassemboli) blir danna i blodet, og fisken døyr på grunn av at blodsirkulasjonen stoppar (Weitkamp & Katz, 1980). Forut for dødelegheita vil det vera ein latent periode der blod og vev hjå fisken vert metta med løyst gass for å komma i likevekt med gassmettinga i vatnet (Bouck, 1980). Muskelaktivitet er ein vesentleg faktor for at det skal dannast bobler i blodet (Weitkamp & Katz, 1980). Dette forklarar kvifor det kan dannast gassbobler i fiskeblod utan at det vert observert gassbobler i karet eller vatnet omkring fisken. Gassbobler kan dannast i gjellearteriolane, og om boblene når tilstrekkeleg størrelse kan dei forårsaka stans i blodgjennomstrøyminga gjennom gjellene. Dersom mengda av løyst gass i blodet er stor nok, kan heile bulbus i hjarta verta fylt med gass. Sjølv om hjarta held fram med å slå, kan ikkje blodet pumpast gjennom det på grunn av gassen. Mest truleg er det slike gassbobler i blodet som forårsaka den akutte dødelegheita i 173 % O₂-gruppa.

Emboli og gassblærer kan kun dannast når summen av trykket til alle løyste gassar overstig summen av hydrostatisk trykk (trykket av vatnet omkring fisken) og andre kompensierende trykk (blodtrykk, vevstrykk og overflatespenninga til vatnet) (Bouck, 1980). Vatnet må med andre ord vera overmetta av gassar for at gassblæresykje skal oppstå. Faktorar som til dømes art, størrelse, kjønn og generell fysiologisk tilstand påverkar kva effekt eit visst nivå av ein vasskvalitetsparameter har på fisken (Wedemeyer, 1997). Ulike artar og livsstadier vil derfor ha ulik toleransegrenser for gassovermetting. 110 % totalgassmetting blir av Wedemeyer (1996) oppgitt som ei generell øvre grense for å unngå gassblæresykje på fisk, men han anbefalar å halda mettingsnivået under 105 % for laksefisk opp til smoltstørrelse. 115 % totalmetting synte seg å vera akutt dødeleg for torsk i dette forsøket, gitt at det faktisk var den totale gassovermettinga som forårsaka dødelegheita. 109,5 % totalmetting gav eit kronisk forløp av gasblæresykje, medan 105 % totalmetting ikkje såg ut til å gje skadelege verknader på fisken. Skajaa *et.al* (2004) fann heller ingen negative effektar på fysiologi, vekst eller overlevelse på torskeyngel (30-55 gram) eksponert for inntil 105 % totalgassmetting over 7

veker, der nitrogen utgjorde overmettinga. Det kan sjå ut til at toleransegrensa for totalgassmetting på juvenil torsk ligg mellom 105 – 109 %, når oksygen utgjør overmettinga. Toleransegrensa vil sannsynlegvis ligga noko lågare når nitrogen utgjør overmettinga, dette fordi oksygen vert metabolisert i vevet (Wedemeyer, 1996).

Det var signifikante forskjellar mellom alle behandlingsgruppene når det gjaldt CO₂-mengde i blodet. CO₂-mengda var lågast i kontrollgruppa, og steig med aukande oksygenmetting i vatnet (tabell 3.6, 7.15 og 7.16). Dette stemmer med teorien. Hjå fisk er det hovudsakleg tilgjengelegheita av oksygen som avgjer pustefrekvensen. (Dejours *et.al.*, 1977). Høge oksygenverdiar i vatnet medfører redusert ventilasjonsfrekvens, og sidan CO₂ blir utskilt over gjellene parallelt med oksygenopptaket, blir resultatet opphoping av CO₂ i blodet. Dette medfører forsuring av blodet (respiratorisk acidose) (Wedemeyer, 1997). CO₂ løyser seg i blodet og dannar karbonsyre (H₂CO₃), som igjen løyser seg til bikarbonat (HCO₃⁻) og hydrogenionar (H⁺):



Fisken kan kompensera for denne forsuringa ved akkumulering av bikarbonat, som vert teke opp over gjellene i bytte mot kloridionar (Cl⁻) (Jensen *et.al.*, 1993). Dette samsvarer også med våre resultat, der bikarbonatnivået steig og kloridnivået i blodet avtok med aukande oksygenmetting (tabell 3.6). For bikarbonat var det signifikante forskjellar mellom alle gruppene både på dag 17 og 38 (tabell 3.6 og 7.17). For klorid var det signifikant forskjell kun mellom kontrollgruppa og 145 % oksygengruppa, og kun på dag 38. pH var lågast for kontrollgruppa både på dag 17 og 38, og høgast for 145 %-gruppa på dag 38 (tabell 3.6). Forskjellen var signifikant mellom alle tre grupper på dag 38, men ikkje på dag 17 (tabell 7.14). Det ser altså ut til at torsk kan kompensera for respiratorisk acidose.

Endringar i plasma-glukosenivået har vore mykje brukt som indikator på den sekundære (metabolske) stressresponsen hjå fisk (Iwama *et.al.*, 2006). Stress er ein energikrevande prosess, og fisken må derfor mobilisera energisubstrat. Ved første blodprøvetaking (før igangsetjing av eksponeringsperioden) var glukosenivået høgare enn ved dei påfølgjande målingane (tabell 3.6). Ser ein bort frå denne første prøvetakinga, var det ein tendens til at glukosenivået steig over tid i gruppene som vart eksponert for oksygenovermetta vatn, medan

det omvendte var tilfelle for kontrollgruppa. Dette kan tyda på at dei forhøga oksygenverdiane påfører fisken stress.

Superoksid-radikalet (O_2^-), hydrogenperoksid (H_2O_2) og hydroksid-radikalet ($OH\cdot$) er reaktive oksygenforbindelsar som vert danna som biprodukt av oksygenmetabolismen. Dei primære forvarssystema på det molekylære nivået er enzyma superoksid dismutase, katalase og glutathion peroksidase (Colt *et.al.*, 1991). I dette forsøket vart det ikkje sett nærare på nivået av desse enzyma, men Olsvik *et.al* (2006) brukte fisk frå 145 % O_2 -gruppa og kontrollgruppa i sitt arbeid. Olsvik fann at transkripsjonsnivået av genet som kodar for antioksidanten GSH- P_x (fosfolipid hydroperoksid glutathion peroksidase) i leveren var signifikant oppregulert i 145 % O_2 -gruppa samanlikna med kontrollgruppa. Det tyder på at fisken i 145 % O_2 -gruppa har vore utsett for eit forhøga nivå av reaktive oksygenforbindelsar. 118 % O_2 -gruppa vart ikkje undersøkt av Olsvik.

I dette forsøket var det altså sannsynlegvis den totale gassovermettinga som medførte dødelegheit og skader på fisken. Det kan imidlertid ikkje utelukkast at dei forhøga oksygenverdiane i seg sjølv var giftige for fisken gjennom at det vart danna reaktive oksygenforbindelsar. Desse forbindelsane kan dannast ved høg oksygenovermetting uavhengig av gassblæresykje og høgt trykk i seg sjølv (Stefansson *et.al*, 2006). Det kunne vore interessant å samanlikna grupper som fekk samme oksygenmetting med ulik (med og utan) totalgassovermetting. Eit slikt forsøksoppsett var imidlertid ikkje mulig å gjennomføra ved HiT då dette forsøket vart utført.

4.2.3 Smitteforsøk med *Listonella anguillarum*

Suboptimal vasskvalitet kan påføra fisken kronisk stress. Dette kan vidare medføra redusert immunforsvar, truleg som ein bieffekt av auka kortisolproduksjon hjå fisken (Wedemeyer, 1997). Kortisolnivået i blodplasma vart ikkje målt, men det var ein tendens til høgare glukosenivå i blodet hjå fisk i 118 % og 145 % - oksygengruppene samanlikna med kontrollgruppa (tabell 3.3). Kortisol (og adrenalin) spelar ei viktig rolle i den stress-assosierte auken i plasma-glukosekonsentrasjon i fisk (Iwama *et.al*, 2006), og det forhøga glukosenivået i 118 % og 145 % oksygengruppene kan derfor vera ein indikasjon på forhøga kortisolnivå.

Ut frå dette kunne det forventast å finna ein forhøga dødelegheit i gruppene som tidlegare var eksponert for hyperoksi. Men resultata frå smitteforsøket med *L. anguillarum* tyder på at det ikkje er nokon samanheng mellom tidlegare eksponering for forhøga oksygenverdiar og mottakelegheit for klassisk vibriose hjå torsk. Dødelegheita i dei ulike gruppene byrja på samme tid (figur 3.13), og det var ingen signifikante forskjellar i dødelegheitsforløp eller akkumulert dødelegheit/overlevelse.

Innad i 145 % oksygengruppa var det ein tendens til at fisk med gassblærer i finner og augo døydde raskare enn fisk utan gassblærer (figur 3.14). Det kan tenkast at desse skadene kan ha vore ein innfallsport for bakteriane som vart tilført vatnet under badsmitten, og at desse individa derfor hadde ein forhøga risiko for å bli smitta tidleg i forsøket. Forskjellen i dødelegheitsforløpet var imidlertid ikkje signifikant forskjellig. Samanlikna med dei andre gruppene hadde 145 % O₂-gruppa noko høgare overlevelse etter smitte (tabell 3.8). Dette kan ha samanheng med at denne gruppa hadde forhøga dødelegheit i eksponeringsperioden. Dei svakaste individa i gruppa kan ha døydd i denne perioden. Det kan tenkast at det ville vore høgare dødelegheit i 145 % O₂-gruppa dersom desse individa overlevde oksygeneksponeringa og vart utsett for smitte.

Dersom ein ser på all fisken under eitt, var det ingen samanheng mellom størrelse på fisken og om den døydde eller ikkje i smitteforsøket (tabell 3.10). Det kan sjå ut til at størrelsen ikkje har så mykje å seia for mottakelegheita for vibriose. Eventuelt kan størrelsesforskjellane hjå fisken i dette forsøket vera for små til at det gjer utslag på dødelegheita. Det var ein tendens til lågare vekstrate i eksponeringsperioden hjå fisken som døydde i smitteforsøket, men forskjellen var ikkje signifikant.

Sjølv om smittedosen vart redusert kraftig frå presmitteforsøket, var overlevelsen i smitteforsøket om lag den samme som for dei tre gruppene i presmitteforsøket (tabell 3.7 og 3.8). Det ser ut til å vera vanskeleg å oppnå 50 % dødelegheit i eksperimentell badsmitte av torsk med *L. anguillarum*. Dersom bakteriemengda ein tilførte i badesmitten er tilstrekkeleg til å gje sjukdomsutbrot hjå nokre individ, vil smittepresset, uavhengig av smittedose, bli så stort at mesteparten av fisken blir smitta og dør.

I dette forsøket var det altså ikkje påvist nokon samanheng mellom forutgåande eksponering for hyperbarisk oksygenovermetting og mottakelegheit for vibriose. Det kunne vore interessant å sjå om det samme hadde vore tilfelle dersom fisken hadde blitt smitta medan den gjekk i atskilte grupper med ulik oksygen- og totalgassmetting. Kanskje ville ein då sett ein forskjell mellom behandlingsgruppene. Då dette forsøket vart utført, var det ikkje mogeleg å gjennomføra eit slikt forsøksoppsett ved HiT.

4.2.4 Velferd

I Stortingsmelding nr 12 (Om dyrehold og dyrevelferd) vert det lagt vekt på at fisk i oppdrett må sikrast eit miljø som er tilpassa den enkelte art og livsstadium, med tanke på mellom anna vasskvalitet. Den akutte dødelegheita blant torsken i 173 % oksygengruppa tyder på at denne fisken har opplevd eit miljø den ikkje meistrar. Ein må kunna konkludera med at denne fisken har fått sterkt redusert velferd. Den forhøga dødelegheita og reduksjon i vekst hjå torsken i 145 % oksygengruppa indikerer redusert velferd også i denne gruppa. Det er omdiskutert om fisk kan føla smerte, og me veit derfor ikkje om fisken som utvikla til dels svært omfattande gassblærer har lidd på grunn av dette. Vekstresultata syner imidlertid at desse individa hadde redusert vekstrate i eksponeringsperioden samanlikna med resten av fisken i gruppa. For å vera føre-var vil det sannsynlegvis vera riktig å hevda at gassblæresykje er forbunde med redusert velferd hjå fisk.

5 Konklusjonar

- Det ser ut til at oksygenovermetting kombinert med total gassovermetting kan gje gassblæresykje hjå juvenil torsk. Avhengig av mettingsnivået kan forløpet vera akutt og medføra oppimot 100 % dødelegheit i løpet av få dagar, eller forløpet kan vera kronisk, med noko forhøga dødelegheit over lengre tid (veker).
- Kombinasjonen 173 % oksygenmetting og 115 % totalgassmetting, medfører akutt, høg dødelegheit på juvenil torsk. Truleg er det totalgassmettinga som er utslagsgjevande, men det kan ikkje utelukkast at oksygenovermettinga i seg sjølv har innverknad.
- Kombinasjonen 145 % oksygenmetting og 109 % totalgassmetting, vil over tid (dagar/veker) gje eit kronisk forløp av gassblæresykje, nedsett vekst og forhøga dødelegheit hjå juvenil torsk.
- Oksygenmetting på 118 % med 105 % totalgassmetting, ser ikkje ut til å gje skadelege verknader på juvenil torsk. Samanlikna med 76 % oksygenmetting gjev dette oksygennivået betre vekst.
- Det ser ikkje ut til å vera samanheng mellom tidlegare eksponering for hyperoksi/total gassovermetting og dødelegheit etter smitte med vibriose hjå juvenil torsk.
- Forhøga dødelegheit, utvikling av symptom på gassblæresykje og redusert vekst tyder på at torsk utsett for høg oksygenmetting kombinert med total gassovermetting har redusert velferd.

6 Referansar

Björnsson, B. & Ólafsdóttir, S.R. (2006). Effects of water quality and stocking density on growth performance of juvenile cod (*Gadus morhua* L.). *ICES Journal of Marine Science* 63: 326-334

Bouck, G.R. (1980). Etiology of Gas Bubble Disease. *Transactions of the American Fisheries Society* 109: 703-707

Brattelid, T. (1999). Forsøksbetingelser. I Brattelid, T. (red.) *Kompendium i forsøksdyrlære for fiskeforskere* (s 29-52). Norges veterinærhøgskole, Oslo.

Chabot, D. & Dutil, J.D. (1999). Reduced growth of Atlantic cod in non-lethal hypoxic conditions. *Journal of Fish Biology* 5: 472-491.

Christiansen, J.S., Jobling, M., og Jørgensen, E.H. (1990). Oksygen- og vannbehov hos laksefisk. *Norsk Fiskeoppdrett* nr. 10-90, s 28-29 og 37.

Colt, J., Orwicz, K., Bouck, G. (1991). Water Quality Considerations and Criteria for High-Density Fish Culture with Supplemental Oxygen. *American Fisheries Society Symposium* 10: 372-385

Dejours, P., Toulmond, A., & Truchot, J.P. (1977). The effect of hyperoxia on the breathing of marine fishes. *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 58A: 409- 411.

- Iwama, G. K., Afonso, L. O. B. & Vijayan, M. M. (2006). Stress in Fishes. I: Evans, D.H. (red.), & Claiborne, J.B. (red.) *The Physiology of Fishes* (3. utg., s 319-342). CRC Press, Boca Raton, Florida
- Gebauer, R. (1992). Vannbehov. I: Gebauer, R., Eggen, G., Hansen, E. & Eikebrokk, B. (1992). *Oppdrettsteknologi. Vannkvalitet og vannbehandling i lukkede oppdrettsanlegg* (s 171-218). Tapir Forlag, Trondheim
- Jensen, F.B., Nikinmaa, M., Weber, R.E. (1993). Environmental perturbations of oxygen transport in teleost fishes: causes, consequences and compensations. I: Rankin, J. C. & Jensen, F. B. (red.), *Fish Ecophysiology* (s 161-179). Chapman & Hall, London
- Karlsen, Ø. (2002). Tilvekst hos torsk. I Glette, J., van der Meeren, T., Olsen, R.E. & Skilbrei, O. (red.), 2002. Havbruksrapport 2002. Fisken og havet, særnummer 3–2002 (s 74-76). Havforskningsinstituttet.
- Mikkelsen, H., Bjørgan Schrøder, M. & Lund, V. (2004). Vibriosis and atypical furunculosis vaccines; efficacy, specificity and side effects in Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Aquaculture* 242: 81-91.
- Olsvik, P. A., Kristensen, T., Waagbø, R., Tollefsen, K.-E., Rosseland, B. O. & Toften, H. (2006). Effects of hypo- and hyperoxia on transcription levels of five stress genes and the glutathione system in liver of Atlantic cod *Gadus morhua*. *Journal of Experimental Biology* 209: 2893-2901.

Poppe, T. (1999). Systematisk patologi og patofysiologi. I: Poppe, T. (red.) *Fiskehelse og fiskesykdommer* (s 12-36). Universitetsforlaget, Oslo

Skajaa, K., Mortensen, A. & Toften, H. (2004). Effects of supersaturated water on growth and survival of juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) Posterpresentasjon på ICES symposium "Gadoid Mariculture: Development and Future Challenges", 13.-16. juni, Bergen

Stefansson, S., Bæverfjord, G., Finn, R.N., Finstad, B., Fivelstad, S., Handeland, S., Kristensen, T., Kroglund, F., Rosseland, B.O., Rosten, T., Salbu, B. & Toften, H. (2006). Vannkvalitet - laksefisk. I: *Havbruksforskning: Fra merd til mat* (Thomassen, M., Gudding, R., Nordberg, B. & Jørgensen, L., reds.). Norges forskningsråds rapport, ISBN 82-12-02277-3, p 95-112.

Waagbø, R. (1999). Ernæringens betydning for fiskehelsen. I: Poppe, T. (red.) *Fiskehelse og fiskesykdommer* (s 230-239). Universitetsforlaget, Oslo

Wedemeyer, G. A., (1996). *Physiology of fish in intensive culture systems*. Chapman & Hall, USA

Wedemeyer, G. A., (1997). Effects of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture. I: Iwama, G. K, A. D. Pickering, Sumpter, J. P. & Schreck, C. B: *Fish Stress and Health in Aquaculture* (s 35-71). Cambridge University Press, Cambridge

Weitkamp, D. E. & Katz, M. (1980). A Review of Dissolved Gas Supersaturation Literature. *Transactions of the American Fisheries Society* 109: 659-702

Zar, J. H. (1996). *Biostatistical Analysis*. (3. utg.). Prentice Hall, New Jersey, USA.

7 Vedlegg

7.1 Forklaring til forkortinger brukt i oppgåva

HiT	Havbruksstasjonen i Tromsø
FHL	Fiskehelselaboratoriet (avdeling av HiT)
LA	Landanlegget (avdeling av HiT)
NIVA	Norsk institutt for vannforskning
SGR	Specific Growth Rate (spesifikk vekstrate)
OD	Optical Density (optisk tettheit)
CFU	Colony Forming Units (kimal)
SD	Standard Deviation (standardavvik)
SE	Standard Error (standardfeil)

7.2 Framgangsmåte for uttak av vassprøver til NIVA

Kjelde: Norsk institutt for vannforskning (NIVA)

Vannprøver – 0,5 L plastflasker:

Alle vannprøveflasker må skylles godt 2 ganger før de fylles. La skyllevannet renne over korken. Fyll flasken helt opp, og lukk korken godt. Merk flaskene slik det står beskrevet i dette skrevet. Etter prøvetak settes flaskene kjølig og sendes så raskt som mulig med bedriftspakke til NIVA. Bruk emballasje som beskrevet i brevet.

Prøvetak av CO₂ – glassflasker

Huskeregelen nr.1 er å ha minst mulig kontakt mellom vann og luft.

1. **Merk glassflaskene og plastburkene før prøvetaking** med kar nr, høy eller lav belastning, og dato. Bruk vedlagte sorte tusj.
2. Trekk på vedlagte gummihansker under de følgende operasjoner:
3. Flaskene fylles med vann fra oppdrettskaret ved hjelp av hevertslange til de er helt fulle, og la vannet renne igjennom ca. 2x flaskens volum.
4. Fjern slangen og tilsett umiddelbart 1 ml med bioblokkerer (kvikksølvklorid, HgCl₂). Bioblokkeren (som er giftig, se vedlagte datablad) trekkes opp i vedlagte 1 ml sprøyte, og injiseres etter at sprøyten er stukket ca. 3 cm ned i flaskeåpningen (til litt under overgangen i flaskehalsen). **Unngå at luft følger med i sprøyten.**
5. Glasstoppen slippes på slik at den suger seg fast, og sørg for at korken sitter godt fast.
6. Fyll den store plastburken (stor åpning) med vann, og senk glassflasken med CO₂ prøven nedi.. Plastburken skal være helt fylt før plastløkken skrues godt til

7.3 Oppskrift på Marine Broth (MB)

37,4 gram MB

1 liter destillert vatn

Blandinga vart kokt opp under omrøring, og deretter avkjølt. Løysinga vart filtrert med sug, og autoklavert i 2 timar.

7.4 Metode for påvisning av *L. anguillarum* på torsk

Dyrkingsmedium for *L. anguillarum*: blodagar med 2 % salt.

Bakterieutstryk frå død fisk:

1. Overflata på fisken tørkast rein med papir innsett med 70 % sprit, med fokus på nakken.
2. Med ein steril skalpell lagast eit snitt gjennom nakken og ryggraden slik at nyrene vert avdekka.
3. Ei podenål brennast av og førast ned i nyra, og haldast slik til podenåla er avkjølt.
4. Podenåla strykast deretter over dyrkingsmediet i eit fortynningsutstryk.
5. Skåla inkuberast ved 12 °C i 2-3 dagar før avlesing.

7.5 Tukey-Kramer testar av data

7.5.1 Vekstdata

Tabell 7.1 Resultat av Tukey-Kramer test for fisken si lengde på dag -2/-1

	118 % O₂-gruppa	Kontroll A	Kontroll B
145 % O₂-gruppa	ns	ns	ns
118 % O₂-gruppa		ns	ns
Kontroll A			ns

Tabell 7.2 Resultat av Tukey-Kramer test for fisken si lengde på dag 39/40

	118 % O₂-gruppa	Kontroll A	Kontroll B
145 % O₂-gruppa	***	*	ns
118 % O₂-gruppa		***	*
Kontroll A			*

Tabell 7.3 Resultat av Tukey-Kramer test for fisken si lengde på dag 80

	118 % O₂-gruppa	Kontroll A	Kontroll B
145 % O₂-gruppa	ns	ns	ns
118 % O₂-gruppa		*	ns
Kontroll A			ns

Tabell 7.4 Resultat av Tukey-Kramer test for fisken si vekt på dag -2/-1

	118 % O₂-gruppa	Kontroll A	Kontroll B
145 % O₂-gruppa	ns	ns	ns
118 % O₂-gruppa		ns	ns
Kontroll A			ns

Tabell 7.5 Resultat av Tukey-Kramer test for fisken si vekt på dag 39/40

	118 % O₂-gruppa	Kontroll A	Kontroll B
145 % O₂-gruppa	***	***	ns
118 % O₂-gruppa		***	***
Kontroll A			**

Tabell 7.6 Resultat av Tukey-Kramer test for fisken si vekt på dag 80

	118 % O₂-gruppa	Kontroll A	Kontroll B
145 % O₂-gruppa	ns	ns	ns
118 % O₂-gruppa		*	ns
Kontroll A			ns

Tabell 7.7 Resultat av Tukey-Kramer test for spesifikk vekstrate i eksponeringsperioden (dag -2/-1 til 39/40)

	118 % O₂-gruppa	Kontroll A	Kontroll B
145 % O₂-gruppa	***	***	ns
118 % O₂-gruppa		***	***
Kontroll A			***

Tabell 7.8 Resultat av Tukey-Kramer test for spesifikk vekstrate hjå fisken på FHL lager (dag 39/40 til 80)

	118 % O₂-gruppa	Kontroll A	Kontroll B
145 % O₂-gruppa	ns	ns	ns
118 % O₂-gruppa		ns	ns
Kontroll A			ns

Tabell 7.9 Resultat av Tukey-Kramer test for fisken sin kondisjonsfaktor på dag -2/-1

	118 % O₂-gruppa	Kontroll A	Kontroll B
145 % O₂-gruppa	ns	ns	ns
118 % O₂-gruppa		ns	ns
Kontroll A			ns

Tabell 7.10 Resultat av Tukey-Kramer test for fisken sin kondisjonsfaktor på dag 39/40

	118 % O₂-gruppa	Kontroll A	Kontroll B
145 % O₂-gruppa	ns	***	*
118 % O₂-gruppa		***	**
Kontroll A			ns

Tabell 7.11 Resultat av Tukey-Kramer test for fisken kondisjonsfaktor på dag 80

	118 % O₂-gruppa	Kontroll A	Kontroll B
145 % O₂-gruppa	ns	ns	ns
118 % O₂-gruppa		ns	ns
Kontroll A			ns

7.5.2 Blodverdiar

Tabell 7.12 Resultat av Tukey-Kramer test for kloridnivå i fiskeblodet

	Cl ⁻ (mmol/l)			
	Dag 17		Dag 38	
	118 % O ₂ -gruppa	Kontrollgruppa	118 % O ₂ -gruppa	Kontrollgruppa
145 % O ₂ -gruppa	ns	ns	ns	*
118 % O ₂ -gruppa		ns		ns

Tabell 7.13 Resultat av Tukey-Kramer test for ureanivå i fiskeblodet

	Urea (mmol/l)			
	Dag 17		Dag 38	
	118 % O ₂ -gruppa	Kontrollgruppa	118 % O ₂ -gruppa	Kontrollgruppa
145 % O ₂ -gruppa	ns	**	ns	ns
118 % O ₂ -gruppa		ns		ns

Tabell 7.14 Resultat av Tukey-Kramer test for pH-verdi i fiskeblodet

	pH			
	Dag 17		Dag 38	
	118 % O ₂ -gruppa	Kontrollgruppa	118 % O ₂ -gruppa	Kontrollgruppa
145 % O ₂ -gruppa	ns	ns	**	***
118 % O ₂ -gruppa		ns		*

Tabell 7.15 Resultat av Tukey-Kramer test for TCO₂ i fiskeblodet

	TCO ₂ (mmol/l)			
	Dag 17		Dag 38	
	118 % O ₂ -gruppa	Kontrollgruppa	118 % O ₂ -gruppa	Kontrollgruppa
145 % O ₂ -gruppa	**	***	***	***
118 % O ₂ -gruppa		**		***

Tabell 7.16 Resultat av Tukey-Kramer test for pCO₂ i fiskeblodet

	pCO ₂ (mmHg)			
	Dag 17		Dag 38	
	118 % O ₂ -gruppa	Kontrollgruppa	118 % O ₂ -gruppa	Kontrollgruppa
145 % O ₂ -gruppa	ns	***	ns	***
118 % O ₂ -gruppa		ns		*

Tabell 7.17 Resultat av Tukey-Kramer test for HCO₃⁻ i fiskeblodet.

	HCO ₃ ⁻ (mmol/l)			
	Dag 17		Dag 38	
	118 % O ₂ -gruppa	Kontrollgruppa	118 % O ₂ -gruppa	Kontrollgruppa
145 % O ₂ -gruppa	**	***	***	***
118 % O ₂ -gruppa		***		***