

En sammenligning av anaerob svømmekapasitet og påfølgende restituering hos diploid og triploid atlantisk torsk (*Gadus morhua*)

—
Tonje Kristin Jensen

Masteroppgave i fiskeri- og havbruksvitenskap FSK-3960 (60 stp) – Mai 2015

FORORD

Min tid som student på Norges Fiskerihøgskole er nå over, og jeg ønsker herved å takke for en fantastisk spennende og variert studietid. Jeg har gjennom min tid som student i Fiskeri- og havbruksvitenskap fått være med på mange interessante teoretiske og praktiske øvelser som har lært meg mye om Norges fiskeri- og havbruksnæring. Jeg har satt stor pris på alle fagfolk jeg har møtt på min vei som har gjort vanskelige spørsmål meget oppklarende for meg.

Jeg vil gjerne takke professor Helge K. Johnsen for invitasjonen til prosjektet som ble en del av min masteroppgave. Takk til alle som deltok under feltarbeidet, forsøkene og analysearbeidet. Takk til Helge og førsteamanuensis Stefano Peruzzi for god veiledning i forkant og under mitt masterarbeid. Tusen takk til postdoktor Anders Karlsson for meget god veiledning, spesielt under skriveperioden. Deres hjelp har vært til meget stor nytte for meg, og jeg har satt stor pris på deres faglige innspill under arbeidet med min masteroppgave.

Takk til kull-2010, som nok er et av Norges minste, og andre medstudenter for en trivelig og sosial studietid. Takk til deg Helene for alle dine tålmodige stunder med meg. Du har delt mye kunnskap og forklart vanskelige ting på en lett og forståelig måte. Jeg ønsker også å takke deg for en fantastisk tid under jobbingen med Håp i Havet 2014. Jeg håper vi en dag treffes ute i arbeidslivet – du i dress og jeg i laboratoriefrakk.

Til sist ønsker jeg å takke familie, venner og kjæreste. Dere har nok neppe skjønt hva jeg har holdt på med under masterjobbingen, men dere har likevel vært meget støttende og kommet med gode råd. Tusen takk til mamma for matematisk hjelp i ny og ne og Aasta for grammatisk ekspertise. Spesielt takk til min kjæreste Martin for alle gangene du har laget middag mens jeg har sittet med ansiktet plantet i nok en artikkel.

Tromsø, 15. mai 2015

Tonje Kristin Jensen

SAMMENDRAG

Diploid fisk er mest utbredt i naturen og har to kromosomsett, mens triploid fisk har tre. Triploid fisk er funksjonelt steril, noe som gjør dem ute av stand til å reprodusere. Triploidisering av oppdrettsfisk gjør det derfor mulig å kontrollere kjønnsmodning, samtidig som risikoen for genetisk interaksjon mellom rømt oppdrettsfisk og villfisk reduseres betydelig eller fjernes helt. Diploid og triploid fisk har relativ lik fysiologi, selv om enkelte forskjeller finnes. De mest fremhevede fysiologiske forskjellene hos triploid fisk er lav toleranse overfor ugunstige miljøforhold (for eksempel høy temperatur) og høyere frekvens av deformiteter sammenlignet med diploid fisk.

Evnen til rask restitusjon etter utmattende svømming, forårsaket av for eksempel håving eller pumping, er interessant i oppdrettssammenheng, blant annet fordi dette kan tenkes å påvirke vekst, overlevelse og mottakelighet for sykdom. I denne studien var formålet å undersøke hvorvidt triploid atlantisk torsk har redusert anaerob svømmekapasitet og restitusjonsevne etter utmattende svømming sammenlignet med diploid atlantisk torsk. Dette undersøkte vi ved å utføre en akselererende spurttest hvor fisken ble tvunget til å svømme mot en stadig økende vannstrøm. Strømhastigheten økte fra 10 til 120 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ over 11 minutter med en akselerasjon på 0,1667 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-2}$. Etter utmattelse ble en gruppe avlivet umiddelbart og prøvetatt, mens de resterende gruppene fikk restituere seg i henholdsvis 1, 2, 4 og 8 timer før avlivning og prøvetaking. Testen ble utført på 50 diploide individer og 51 triploide individer. Vi målte hematokrit, laktat i blod, glukose og klorid i plasma, osmolalitet i plasma og hvit muskel, samt glukose, glykogen og laktat i muskel og lever før og etter utmattende svømming.

Vi fant ingen signifikant forskjell i anaerob svømmekapasitet mellom diploid og triploid atlantisk torsk, ei heller i deres evne til restitusjon i etterkant av utmattelsen. Derimot var det forskjeller i glukose, glykogen og laktatnivå i muskel og lever mellom diploid og triploid atlantisk torsk.

INNHALDSFORTEGNELSE

Forord.....	1
Sammendrag.....	1
1. INNLEDNING.....	1
1.1. Torskens generelle biologi.....	1
1.2. Oppdrett av torsk.....	2
1.3. Triploid oppdrettsfisk.....	4
1.4. Induksjon av triploid fisk.....	5
1.5. Diploid og triploid fisk – en sammenligning av fysiologi og egenskaper.....	7
1.6. Svømmekapasitet hos diploid og triploid fisk.....	14
1.7. Problemstilling.....	18
2. MATERIALE OG METODER.....	19
2.1. Forsøksfisk.....	19
2.2. Forsøksfasiliteter.....	20
2.3. Forsøksdesign.....	22
2.4. Laboratorieanalyser.....	24
2.5. Databehandling og statistikk.....	28
3. RESULTATER.....	30
3.1. Kroppsstørrelse.....	30
3.2. Svømmekapasitet.....	30
3.3. Blodparametere.....	31
3.4. Osmolalitet i plasma og hvit muskel og klorid i plasma.....	34
3.5. Glukose, glykogen og laktat i hvit muskel og lever.....	35
4. DISKUSJON.....	39
4.1. Kroppsstørrelse.....	39
4.2. Svømmekapasitet.....	39
4.3. Fysiologiske likheter og forskjeller mellom diploid og triploid atlantisk torsk.....	40
4.4. Restituering etter utmattende, anaerob svømming.....	41
4.5. Oppsummering.....	45
5. REFERANSELISTE.....	46

1. Innledning

1.1. Torskens generelle biologi

Atlantisk torsk (*Gadus morhua*) har et stort utbredelsesområde som strekker seg fra Barentshavet i øst til vest i Atlanterhavet, og fra Cape Cod og Biscaya i sør til Spitsbergen i nord (Geffen m.fl., 2006). Innenfor dette området finnes det flere stammer som viser forskjeller i vekst- og reproduksjonsmønster (Brander, 2005). Det mest vanlige temperaturområdet for torsk er 1-12°C. Det finnes imidlertid populasjoner og stammer som lever i kaldere eller varmere vann, slik at temperaturområdet for arten blir -1 til 20°C (Taranger m.fl., 2010). Spennet i artens temperaturområde påvirker gytesesongen som varierer geografisk fra sør til nord mellom januar og mai, og den varer vanligvis mellom 60 og 90 dager (Hall m.fl., 2004).

Torsken er en iteroparous art. Det vil si at den er flergangsgyter (Murua & Saborido-Rey, 2003). Arten har høy fekunditet, en hunnfisk kan gyte opptil 17-19 porsjoner egg over en gytesesong, hvor hver porsjon kan inneholde opptil 3-400 000 egg (Kjesbu, 1989). Eggene er pelagiske og flyter rundt i de øvre vannlagene (Nissling & Westin, 1991). Klekkingen av eggene avhenger av temperaturen. Torskeeggene klekker 16,4 dager etter fertilisering (DEF) ved 6°C, 10,3 DEF ved 8°C, 9,4 DEF ved 10°C og 7,4 DEF ved 12°C under normale forhold (Geffen m.fl., 2006).

Langs norskekysten er det vanlig å skille mellom kysttorsk (KT) og den norsk-arktiske torsken (NAT). KT er stedbunden og foretar ikke lange gytevandring, mens NAT er vandrende (Moen & Svensen, 2008). De to stammene kan bli sett på som to forskjellige populasjoner og viser forskjeller i vekst og alder ved første gyting (Godø & Moksness, 1987). KT vokser raskere enn NAT før kjønnsmodning og KT når kjønnsmodning ved en lavere alder (Godø & Moksness, 1987). Alder ved kjønnsmodning påvirkes av tilgjengelighet av mat og temperatur i torskens habitat (Taranger m.fl., 2010). KT og NAT kjønnsmodner ved en alder på henholdsvis 4-6 og 6-8 år (Godø & Moksness, 1987; Taranger m. fl., 2006).

1.2. Oppdrett av torsk

Tidlig på 80-tallet ble Atlantisk torsk introdusert som mulig oppdrettskandidat, blant annet som et tiltak for å øke diversiteten i norsk oppdrett, men også grunnet bekymring knyttet til lave torskebestander (Hansen m.fl., 2001; Peruzzi & Jobling, 2010). Det ble forsket mye på hvordan man kunne oppnå intensiv produksjon av oppdrettstorsk. Målet var å gjenta suksessen man hadde sett ved oppdrett av atlantisk laks (*Salmo salar*) (Peruzzi & Jobling, 2010). Siden den tid og frem til i dag har vi ikke sett like stor suksess med oppdrettstorsk som vi gjorde med oppdrettslaks. Årsaken til dette oppsummeres godt av Henrik Andersen, markedsdirektør i Cod Farmers, et selskap som nå er på randen av konkurs:

I ettertid og med etterpåklokskapens briller på, er det lett å se at vi tok feil. Vi trodde at vi hadde god nok yngel – men fisken vokste ikke raskt nok. Sykdom og deformiteter bredte seg i anlegg, og på toppen av det hele kom finanskrisen (Andersen, 2010).

Siden 2010 og frem til i dag har mengden oppdrettet torsk sunket fra 21.000 tonn til i underkant av 4000 tonn (Fiskeridirektoratet, 2007) (Tabell 1). På samme tid har mengden torsk landet fra norske fartøy steget fra 280.000 til 470.000 tonn (Fiskeridirektoratet, 2008) (Tabell 1). Som en naturlig årsak av dette har den totale verdien av oppdrettstorsk per år sunket mens den samlede verdien av villfanget torsk har steget. Dersom dette omregnes til pris per kilo fisk, ser man imidlertid en klar økning i pris per kilo oppdrettstorsk og en nedgang i pris per kilo villfanget torsk (Tabell 1). En høy markedspris for oppdrettstorsk er nødvendig for å kompensere for de høye utgiftene knyttet til produksjonen (Peruzzi & Jobling, 2010). En av årsakene til nedgang i oppdrettstorsk fra 2010 til 2013 kan muligens forklares med økte kvoter og fangst av villfanget torsk. Kombinasjonen mellom stor mengde tilgjengelig villfanget torsk og lav kilopris var muligens med på å senke produksjonen av oppdrettstorsk. Til tross for en betydelig nedgang i produksjonen av oppdrettet torsk har likevel denne industrien kommet seg gjennom noen viktige flaskehalser (Peruzzi & Jobling, 2010).

Tabell 1. Kvantum og verdi av torskefangst landet fra norske fartøy (statistikken er basert på landings- og sluttseddeldata fra fiskesalgslagene til Fiskeridirektoratet. Tallene inkluderer norske skolekvoter og forskningsfangst som er omsatt) og total solgt kvantum og verdi av oppdrettstorsk (produksjon basert på yngel klekket i fangenskap og villfanget småfisk) for 2010-2013 (Fiskeridirektoratet, 2007; 2008).

Årstill	Kvantum i tonn rundvekt		Verdi i 1000 kroner		Pris per kg fisk	
	Fangst	Oppdrett	Fangst	Oppdrett	Fangst	Oppdrett
2010	283.481	21.240	2.971.242	347.383	10,5	16,4
2011	340.167	15.273	3.959.421	267.373	11,6	15,5
2012	357.951	10.033	3.842.813	209.863	10,7	20,9
2013	471.316	3770	4.052.111	119.990	8,6	31,8

Tidlig kjønnsmodning er et problem i oppdrett, særlig hos laksefisk, men også hos torskefisk (Taranger m. fl., 2010). Under normale vekstforhold gyter oppdrettstorsken når den er to år gammel (Godø & Moksness, 1987; Svåsand m.fl., 1996; Karlsen m.fl., 2006; Taranger m.fl., 2006), og forskjellen i alder ved kjønnsmodning mellom NAT og KT som man ser i naturen er visket ut (Godø & Moksness, 1987; Svåsand m. fl., 1996). Det er til og med observert hanner som er blitt kjønnsmodne ved en alder på ett år (Taranger m. fl., 2010). Den tidlige kjønnsmodningen hos oppdrettstorsk kommer trolig av ubegrenset tilgang på føde, noe som fører til raskere vekst (det er positiv korrelasjon mellom rask vekst og tidlig kjønnsmodning hos fisk) og større energireserver sammenlignet med villtorsk (Karlsen m.fl., 2006; Taranger m.fl., 2010).

Generelt kan tidlig kjønnsmodning ha negative konsekvenser på appetitt, vekstrate, føreffektivitet, kjøttkvalitet, utseende, adferd, velferd og overlevelse (Taranger m. fl., 2010). Disse parameterne, i tillegg til hvor stor negativ effekt de har, varierer fra art til art. Tidlig kjønnsmodning hos torsk kan føre til redusert appetitt, vekst, føreffektivitet og kjøttkvalitet, samt økt dødelighet (Karlsen m.fl., 2006; Taranger m. fl., 2006; Maxime, 2008; Taranger m. fl., 2010). Noen arter, for eksempel atlantisk laks, bruker mye energi under gametogenese og gyting, noe som kan føre til høy dødelighet etter gyting (Taranger m.fl., 2010). Torsken vil normalt overleve en gytesesong, men de kan miste opptil 30% av vekten sin etter en gytesesong (Karlsen m.fl., 2006; Taranger m.fl., 2010). Hos kjønnsmoden torsk reduseres appetitten omtrent en måned før gyting og under store deler av gytesesongen (Karlsen m.fl., 2006; Taranger m.fl., 2010). Reduksjonen av appetitt og vekst under gyting kan føre til at det tar lengre

tid før fisken blir slakteklar, noe som gjør at oppdretteren må holde på fisken lenger enn ønskelig (Karlsen m.fl., 2006).

En annen bekymring knyttet til oppdrett av torsk er faren for genetisk påvirkning mellom ville bestander og oppdrettstorsk (Taranger m.fl., 2010). Torsken har vist mer rømmeadferd enn laksefisk, og kan i tillegg gyte rett i merden slik at eggene spres ut i nærområdet (Karlsen m.fl., 2006; Jørstad m.fl., 2008; Serra-Llinares m. fl., 2013). En løsning på disse problemene kan være produksjon av steril torsk. Steril fisk kan oppnås på flere måter og triploidisering er en av mulighetene. Produksjon av triploid fisk er sett på som den mest praktiske, økonomiske og effektive metoden for storskalaproduksjon av steril fisk og skalldyr (Benfey, 1999; Maxime, 2008).

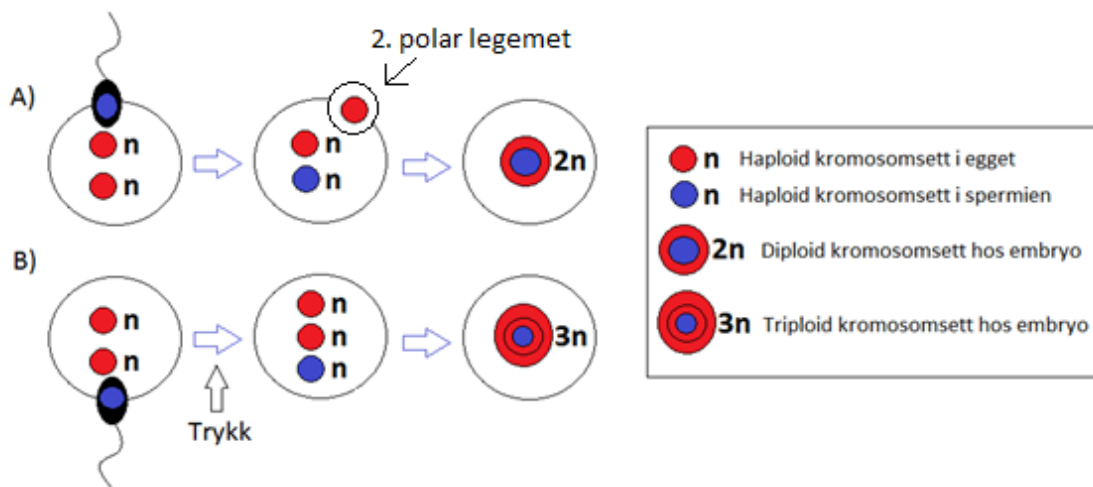
1.3. Triploid oppdrettsfisk

Kort fortalt inneholder triploid fisk tre kromosomsett, mens diploid fisk inneholder to (Benfey, 1999; Maxime, 2008; Piferrer m.fl., 2009; Benfey, 2011). Det er diploid fisk som er mest utbredt i naturen, men det er også observert sporadiske tilfeller av triploide populasjoner hos forskjellige arter i naturen (Maxime, 2008; Benfey, 2011). Triploid fisk er blitt observert naturlig innenfor en rekke forskjellige ordener, som for eksempel tannkarper (*Cyprinodontiformes*), haier/skater (*Orectolobiformes*), karpfisker (*Cypriniformes*), maller (*Siluriformes*) og laksefisker (*Salmoniformes*) (Maxime, 2008).

Triploid fisk kan produseres kunstig. Swarup (1959a, b) var den første til både å produsere triploid fisk som overlevde til voksenstadiet og sammenlignet deres vekst og kjønnsmodning med en diploid kontroll. Swarup (1959b) produserte triploid trepigget stingsild (*Gasterosteus aculeatus*) ved bruk av varme- eller kuldesjokk. Kunstig produksjon av triploide organismer brukes i dag på mange ferskvanns- og sjøvannsarter (Maxime, 2008). Artene regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*), brunørret (*Salmo trutta*), atlantisk laks, ayu (*Plecoglossus Altivelis*) og gresskarpe (*Ctenopharyngodon idella*) er noen av de viktigste (Fraser m.fl., 2012). Den største fordelen med triploid fisk er at de er funksjonelt sterile. Sterilitet kan gi fordelaktig kontroll over kjønnsmodning, samtidig som faren for genetisk interaksjon mellom rømt oppdrettsfisk og villfisk reduseres eller fjernes helt (O'Flynn m. fl., 1997). Det er viktig å nevne at triploid fisk ikke betraktes som genmodifiserte organismer (Maxime, 2008).

1.4. Induksjon av triploid fisk

Under normal befruktning vil to haploide kromosomsett i egget og et haploid kromosomsett i spermien utvikle seg til et diploid kromosomsett hos embryoet (Figur 1). Under utviklingen vil utstøting og degenerering av det andre polare legemet (en del av morfiskens arvemateriale) finne sted. For å produsere triploid fisk blir et fysisk eller kjemisk sjokk påført under meiose II, noe som vil forstyrre celledelingen og hindre utstøting av det andre polare legemet (Figur 1) (Piferrer m.fl., 2009). Dette fører til at triploid fisk har tre kromosomsett (to fra mor og ett fra far).



Figur 1. A) Normal utvikling. B) Triploidisering. Figuren er omarbeidet etter Storset (uten år).

Det finnes flere ulike metoder for å gjøre fisk triploid (Tabell 2). Fysiske metoder inkluderer bruk av kulde-, varme- og/eller trykksjokk (Benfey & Sutterlin, 1984; Lou & Purdom, 1984; Varadaraj & Pandian, 1990; Linhart m.fl., 1991; Hussain m.fl., 1991; Malison m.fl., 1993; Peruzzi & Chatain, 2000). Behandling med ulike kjemikalier som cytokalasin B og 6-dimethylaminopurine har også vært benyttet (Refstie m.fl., 1977; Piferrer m.fl., 2009). Refstie m.fl. (1977) produserte "mosaikk polyploid-diploid" atlantisk laks etter behandling med cytokalasin B. Smith og Lemoine (1979, referert i Tiwary m.fl., 2014b, 392) fikk samme resultater etter behandling med kolkisin hos bekkerøye (*Salvelinus fontinalis*). Bruk av elektroshokk i kombinasjon med varmesjokk har blitt utført på sølv laks (*Oncorhynchus kisutch*) med gode resultater (Teskeredžić m.fl., 1993). Bruk av nitrogenoksid (anestetika) på atlantisk laks ga høye resultater av triploiditet (79,7%), mens bruken av freon ga noe lavere effektivitet (Johnstone m.fl., 1989). Man kan også produsere triploide individer ved å krysse tetraploide hunner med

diploide hanner (Arai m.fl., 1993) eller tetraploide hanner med diploide hunner (Chourrout m.fl., 1986). Dette krever at tetraploide individer produseres i forkant (Maxime, 2008). Denne metoden er ikke særlig benyttet da den har vist å produsere unormale, "mosaikk"-individer (Maxime, 2008). Det finnes altså en rekke metoder for å inducere triploiditet hos fisk, og det er de fysiske metodene (temperatur eller trykk) som er mest akseptert og benyttet på grunn av deres påviste effekt og enkelhet (Tiwary m.fl., 2004b; Maxime, 2008; Piferrer m. fl., 2009).

Hvor effektivt temperatur- eller trykksjokket er, avhenger av tidspunktet, intensiteten og varigheten av sjokket (Maxime 2008; Piferrer m.fl., 2009). Det optimale tidspunktet for når sjokket skal finne sted etter befruktning avhenger blant annet av vanntemperaturen (Piferrer m.fl., 2009). De kritiske verdiene for hver variabel er artsavhengig, og for å oppnå 100% effektivitet er bruken av presise protokoller nødvendig (Piferrer m.fl., 2009). I tillegg må en ha god kvalitet på eggene ettersom det er positiv korrelasjon mellom eggkvalitet og suksessfrekvensen av produsert triploid fisk (Aldridge m.fl., 1990), samt optimal timing i forhold til ovulering (Piferrer m.fl., 2009).

Tabell 2. Eksempler på metoder for å inducere triploiditet hos fisk. Tabellen er tilpasset fra Tiwary m.fl. (2004b).

Metoder	Arter	Referanser
Kuldesjokk	Havabbor (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	Peruzzi & Chatain, 2000
Varmesjokk	Atlantisk laks (<i>Salmo salar</i>)	Benfey & Sutterlin, 1984
	Mosambik tilapia (<i>Oreochromis mossambicus</i>)	Varadaraj & Pandian, 1990
Trykksjokk	Regnbueørret (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Lou & Purdom 1984
	Atlantisk laks (<i>Salmo salar</i>)	Benfey & Sutterlin, 1984
	Karpe (<i>Cyprinus carpio</i>)	Linhart m.fl., 1991
	Nilmunnruger (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Hussain m.fl., 1991
	Gul abbor (<i>Perca flavescens</i>)	Malison m.fl., 1993
Anestetika	Atlantisk laks (<i>Salmo salar</i>)	Johnstone m.fl., 1989
Cytokalasin B	Atlantisk laks (<i>Salmo salar</i>)	Refstie m.fl., 1977
Kolkisin	Bekkerøye (<i>Salvelinus fontinalis</i>)	Se Tiwary m.fl., 2004b
Elektrosjokk+varmesjokk	Sølvlaks (<i>Oncorhynchus kisutch</i>)	Teskeredžić m.fl., 1993
2n hanner + 4n hunner	Kinesisk værål (<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>)	Arai m.fl., 1993
2n hunner + 4n hanner	Regnbueørret (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Chourrout m.fl., 1986

Identifisering av ploiditet

Ploiditet kan identifiseres ved hjelp av en rekke direkte eller indirekte metoder. Med direkte metoder menes blant annet kromosomtelling (karotype), bestemmelse av DNA-innhold, genotyping av mikrosatelitt DNA-markører eller NOR-analyse (Tiwary m. fl., 2004b; Maxime, 2008; Piferrer m.fl., 2009). DNA-innholdet kan bestemmes med blant annet mikrofotometer eller flowcytometri (Thorgaard m.fl., 1982; Maxime, 2008). Med indirekte metoder menes blant annet måling av cellekjernens eller cellens størrelse, proteinelektroforese eller undersøkelse av fiskens morfologi (Tiwary m.fl., 2004b; Piferrer m.fl., 2009).

Siden triploid fisk har større blodceller enn diploid fisk er måling av den lange akselen til røde blodceller en billig og enkel indirekte metode for å analysere ploiditet hos fisk (Piferrer m.fl., 2009). Likevel er direkte metoder, som for eksempel flowcytometri, å foretrekke for å oppnå presise resultater (Tiwary m.fl., 2004b; Piferrer m.fl., 2009). Dette er en nøyaktig og rask analysemetode (Tiwary m.fl., 2004b). Karotype er en annen direkte metode som bestemmer antall kromosomer i en celle. Metoden er tidkrevende, men det er den eneste sikre metoden som finnes for å bestemme ploiditet hos fisk (Maxime, 2008).

Hver metode har sine fordeler og ulemper, og hvilken som er best avhenger blant annet av hvilket og hvor mye prøvemateriale man har, samt at man må ta hensyn til kostnader og budsjett (Maxime, 2008). Hvis man for eksempel skal analysere mange individer og budsjettet er godt vil flowcytometri være en foretrukket metode da dette er en rask og nøyaktig analysemetode (Tiwary m.fl., 2004b; Maxime, 2008).

1.5. Diploid og triploid fisk – en sammenligning av fysiologi og egenskaper

Diploid og triploid fisk av samme art skiller seg fra hverandre på tre ulike måter. For det første er triploid fisk generelt mer heterozygote enn diploid fisk (Leary m.fl., 1985). Dette betyr at triploid fisk har minst to ulike genkopier på sine tre kromosomsett. For det andre er deres gonadeutvikling redusert (for hunner) og de anses som funksjonelt sterile (Benfey 1999; Piferrer m.fl., 2009; Feindel m.fl., 2011; Benfey, 2015). For det tredje har triploid fisk større og færre celler i en rekke vev og organer (Benfey, 1999). Cellekjernen til triploid fisk inneholder 50% mer DNA enn cellekjernen til diploide

(Benfey, 1999). For å imøtekomme det ekstra genetiske materialet er dermed celledørrelsen til triploid fisk større enn hos diploid fisk (Graham m.fl., 1985; Benfey, 1999). Cellekjernen til triploid fisk er cirka 1,5 ganger så stor som hos diploid fisk (på grunn av 1,5 ganger så mye DNA i cellekjernen) (Suresh & Sheehan, 1998).

Sett bort fra nevnte forskjeller har diploid og triploid fisk nokså lik fysiologi (Benfey, 1999; Benfey, 2011). Likevel kan triploiditet ha effekt på vekst og overlevelse. Det kan for eksempel synes som om triploid fisk har lavere toleranse til ugunstige miljøforhold, som for eksempel høy vanntemperatur dårligere enn diploid fisk (Ojolic m.fl., 1995; Altimiras m.fl., 2002; Hyndman m.fl., 2003a). Triploid fisk har også vist en høyere frekvens av deformiteter (Fraser m.fl., 2012). Dette kan føre til redusert vekst og overlevelse, særlig under tidlige livsstadier og under ugunstige miljøforhold.

Ved sammenligning av diploid og triploid fisk er det viktig å ha i bakhodet at triploidisering og dens effekter kan gi ulik respons hos forskjellige familier, altså mellom forskjellige parringer mellom hunner og hanner. Det vil dermed kunne være nødvendig med flere enn én familie i et forsøk der man sammenligner diploide og triploide individer innenfor samme art (Piferrer m.fl., 2009).

Hematologi

Triploid fisk har omtrent 40% større røde blodceller enn diploid fisk (Benfey, 2011). De har imidlertid også færre blodceller, slik at prosentandelen av røde blodceller i blodet (hematokrit) er rapportert å være lik det en finner hos diploide individer (Benfey, 1999; 2011). Et unntak er observert i en studie gjort på diploid og triploid regnbueørret, hvor diploide individer hadde høyere hematokrit enn triploide individer (Virtanen m.fl., 1990).

Hemoglobin fins i de røde blodcellene, og det er her oksygen tas opp og transporteres rundt i kroppen (Bain & Gupta, 2003). I følge Tiwary m.fl. (2004b) er det rapportert ulike hemoglobinnivå hos triploid fisk i forhold til diploid fisk av samme art. Triploid atlantisk laks, sølv laks, *Pomoxis annularis* og regnbueørret har vist lavere hemoglobinnivå enn diploide individer (Tiwary m.fl., 2004b). Ayu og bekkerøye har vist likt hemoglobinnivå i forhold til sin diploide motpart (Tiwary m.fl., 2004b). De fleste studier har ifølge Benfey (2011) vist likt hemoglobinnivå mellom diploid og triploid fisk

av samme art. Likevel vil triploid fisk ha høyere hemoglobinnhold per celle på grunn av dens større røde blodceller (Tiwary m.fl., 2004b; Benfey, 2011).

Det har blitt observert en lavere prosentvis oksygenmetning av hemoglobin (cirka 25% lavere) hos triploid sølv laks. Dette førte videre til lavere oksygeninnhold i blodet (cirka 30% lavere) (Benfey, 2011). Det er rapportert en lavere lastingsrate av oksygen fra hemoglobin hos triploid atlantisk laks sammenlignet med diploide individer (23% lavere). Dette, i tillegg til at triploide individer hadde lavere hemoglobinkonsentrasjon, resulterte videre i et lavere oksygeninnhold i blodet hos triploide individer (32% lavere) (Graham m.fl., 1985). I følge Graham m.fl. (1985) kan redusert evne til å frakte oksygen hos triploid atlantisk laks påvirke triploide individer under anstrengelse.

Overlevelse

Sjokket som benyttes til å produsere triploid fisk kan forårsake en rekke uønskede effekter som kan redusere overlevelse, særlig under tidlige livsstadier. Triploid atlantisk torsk har vist lavere overlevelse enn diploide individer under tidlige livsstadier (Opstad m.fl., 2013). Triploid atlantisk laks har vist lavere overlevelse enn diploide i sjøvann (O'Flynn m.fl., 1997). Triploiditeten i seg selv kan være årsak til redusert overlevelse under senere livsstadier, særlig når miljøforholdene ikke er optimale (Piferrer m.fl., 2009). Uten spesifikt designede forsøk er det riktignok vanskelig å vite om det er sjokket, triploiditeten eller en kombinasjon av disse som skaper redusert overlevelse.

Det er rapportert flere tilfeller der triploide individer har vist redusert toleranse for høye temperaturer. Hele 68,5% triploid regnbueørret døde etter tre uker under kronisk høy temperatur ($21 \pm 1^\circ\text{C}$), mens kun 38,9% diploide døde (Ojolic m.fl., 1995). Hyndman m.fl. (2003a) utførte forsøk på diploid og triploid bekkerøye hvor de ble fysisk utmattet ved høy temperatur (19°C). Etter endt utmattelse døde 9 av 10 triploide i løpet av fire timer, mens alle de diploide overlevde (Hyndman m.fl., 2003a). I et annet forsøk døde 50% av triploid bekkerøye som ble holdt på 18°C over en periode på 12 uker (Altimiras m.fl., 2002). Høy dødelighet er også blitt rapportert hos regnbueørret hvor 62% døde i løpet av 16 uker under en temperaturøkning fra $15,4$ til 19°C (Altimiras m.fl., 2002).

En mulig årsak til at triploid fisk har lavere toleranse til høye temperaturer kan være at de har nedsatt oksygenopptak og transportkapasitet for oksygen (blant annet på grunn av nedsatt maksimal hjertefrekvens under høye temperaturer), sammenlignet med diploide individer (Verhille m.fl., 2013). For å teste dette ble hjertefrekvensen målt under økt temperatur hos diploid og triploid regnbueørret (Verhille m.fl., 2013). Ved 22°C hadde 100% av de triploide ujevn hjertefrekvens, mens 70% av de diploide viste samme ujevnhet. Den mest tolerante diploide fisken i forsøket fikk ujevn hjertefrekvens på 24°C, som var 3°C høyere enn den mest tolerante triploide fisken (Verhille m.fl., 2013). Den lave temperaturtoleransen observert hos triploid fisk kan derfor henge sammen med en temperaturavhengig kollaps av hjerte- og blodkarsystemet og dets evne til å frakte oksygen rundt i kroppen (Verhille m.fl., 2013). Høye temperaturer kan derfor være en flaskehals og en utfordring i oppdrett av triploid laksefisk, særlig på sommeren (Verhille m.fl., 2013; Benfey, 2015).

Vekst

Litteraturen om vekst hos triploid fisk er tvetydig. Siden triploid fisk har økt genetisk heterozygositet (30% høyere) (Leary m.fl., 1985), større celler (Benfey, 1999) og overskudd av energi som egentlig skulle brukes til gametogenese (Maxime, 2008), skulle man tro at triploid fisk vokser raskere enn diploid fisk. Dette har midlertidig vist seg å være vanskelig å bekrefte (Maxime, 2008).

Vekstraten til triploid fisk er artsavhengig. Hos noen arter vokser triploide individer raskere enn diploide individer når de er voksne og modne. Dette gjelder eksempelvis for laksefisk (unntatt sølv laks), nilmunnruget (*Oreochromis niloticus*), maller (unntatt afrikansk malle) og suter (*Tinca tinca*), men er mindre vanlig hos marine fiskearter (O'Flynn m.fl., 1997; Piferrer m.fl., 2009). Den økte vekstraten skyldes mest sannsynlig en redistribusjon av energi fra gametogenese til somatisk vekst (Piferrer m.fl., 2009). Det er også observert at triploid fisk har lik eller lavere vekstrate sammenlignet med diploide av samme art. Eksempler er *Umbrina cirrosa*, gresskarpe, karpe (*Cyprinus carpio*), japansk flyndre (*Paralichthys olivaceus*) og havabbor (*Dicentrarchus labrax*) (Tiwary m.fl., 2004b; Piferrer m.fl., 2009). Hvor diploid og triploid fisk har blitt holdt i samme tank ("common garden"), har triploide vist en lavere vekstrate enn diploide (Maxime, 2008; Piferrer m.fl., 2009).

Vekstraten til diploid og triploid atlantisk laks varierer mellom ferskvanns- og sjøvannsfasen. Triploid atlantisk laks er generelt mindre enn diploide ved klekking, men de har høyere vekstrate gjennom ferskvannsfasen og frem til smoltifisering. I sjøvann derimot, vokser triploid atlantisk laks saktere enn de diploide individene (Benfey, 2015).

Generelt kan det synes som at diploide og triploide individer av samme art har relativt lik vekstrate under tidlige stadier (i noen tilfeller vokser triploide saktere enn diploide), mens under og etter kjønnsmodning har triploide en vekstfordel over diploide da energiforbruket omdirigeres fra gametogenese til somatisk vekst (Benfey, 1999; Piferrer m.fl., 2009). Dette er imidlertid ikke alltid tilfelle, for eksempel fant O'Keefe og Benfey (1999) ingen signifikant forskjell i vekst mellom triploid og diploid bekkerøye. I følge Piferrer m.fl. (2009) kan en mulig forklaring på dette være at enkelte triploide har en tendens til å lagre overskuddsenergien i fettlagrene fremfor å bruke det til vekst av muskelmasse (Piferrer m.fl., 2009).

Reproduksjon og gonadeutvikling

Triploid fisk er ute av stand til å reproducere (Benfey, 2011). Generelt ser man en reduksjon i eggstokkutviklingen og kjønnssteroider i plasma hos triploide hunner, som blant annet medfører at de ikke ovulerer (Benfey, 1999; Benfey, 2015). En lignende utvikling (ufullstendig utvikling av gonader hos hunnfisk) er også observert hos triploid atlantisk torsk (Feindel m.fl., 2011).

Gonadene til triploide hanner derimot vokser nesten til normal størrelse. I tillegg har de normale nivåer av kjønnssteroider i plasma (Benfey, 2015). Triploide hanner (atlantisk torsk) har vist å produsere aneuploide sædceller, hvilket betyr at sædcellene er ødelagte (de har kromosomer som ikke er hele, men de kan være halve, $\frac{3}{4}$ eller lignende) (Peruzzi m.fl., 2009). Dersom de krysses med diploide hunner, produserer de larver med unormal morfologi som ikke overlever (Peruzzi m.fl., 2009). Triploide hanner er ikke fysiologisk sterile, men de anses å være funksjonelt sterile ettersom larver produsert fra deres spermier har 100% dødelighet under embryo- eller larvestadiet (Benfey 1999; Peruzzi m.fl., 2009; Piferrer m.fl., 2009; Benfey, 2015). Et unntak er observert hos triploid rød havabbor (*Pagrus major*), hvor diploide hunner og triploide hanner har produsert levedyktige avkom (Benfey, 1999).

Om triploide hanner rømmer kan de delta i gytingen og parre seg med diploide hunner. Dette kan potensielt sett føre til at rømte triploide hanner kan befrukte egg fra vill hunnfisk (Benfey, 2015). Riktignok vil ikke avkommene til triploide hanner overleve, noe som fjerner den genetiske påvirkningen på ville bestander, men det vil gå ut over gytepotensialet til ville populasjoner i naturen (Benfey, 2015).

For kommersielle arter hvor tidlig kjønnsmodning er et økonomisk problem (for eksempel regnbueørret) kan det produseres kun triploide hunner ("all-female populations") (Fraser m.fl., 2012). Slike populasjoner er også gunstige med hensyn til rømming da triploide hunner ikke deltar i gyting (Benfey, 2015). "All-female"-populasjoner kan produseres ved å fertilisere egg med melke fra "neomales", og deretter utsette eggene for høyt trykk. "Neomales" er hunnfisk som produserer melke i stedet for egg, og dersom deres melke krysses med egg fra normale hunner produseres det kun kvinnelige avkom (Benfey, 2015). "All-female" atlantisk laks produseres blant annet i Tasmania ifølge Benfey (2015).

Deformiteter

I følge Taranger m.fl., (2010) er det den høye forekomsten av deformiteter som har satt den største begrensingen for ekspansjonen av triploid laksefisk i akvakultur. Det er også et velferdsrelatert problem (Fraser m.fl., 2012). Det er rapportert høyere frekvens av deformiteter hos triploid fisk sammenlignet med diploid fisk av samme art på blant annet skjelett, gjellefilamenter, katarakt, svømmeblære og hoderegionen (O'Flynn m.fl., 1997; Sadler m.fl., 2001; Oppdedal m.fl., 2003; Tiwary & Ray, 2004a; Lijalad & Powell, 2009; Leclercq m.fl., 2011; Fraser m.fl., 2013) (Tabell 3). Hos triploid atlantisk laks er deformiteter i ryggvirvlene og kjeven de vanligste misdannelsene knyttet til skjelettet (O'Flynn m.fl., 1997; Sadler m.fl., 2001; Maxime, 2008; Lijalad & Powell, 2009; Fraser m.fl., 2013). Det er også rapportert høyere frekvens av ryggvirveldeformiteter (lordose, kyfose) hos triploid atlantisk torsk sammenlignet med diploide individer av samme art (Opstad m.fl., 2013). Fraser m.fl. (2013) og Leclercq m.fl. (2011) fant ingen effekt av triploiditet på hjertestørrelsen hos triploid atlantisk laks. Som for redusert overlevelse er det også for økt deformitet vanskelig å si om det er sjokket, triploiditeten eller en kombinasjon av disse som er årsaken.

Deformiteter hos laks er mest sannsynlig knyttet opp mot ernæringsmessige behov (Fraser m.fl., 2013). BioMar har nylig lansert spesialfôr til triploid laks (Tri X) som er laget for hele produksjonsforløpet (fra startfôr til slakt). BioMar opplyser at fôret blant annet skal gi reduksjon av kjeve- og ryggspyldedeformiteter (Nettadresse A, 2015).

Tabell 3. Tilfeller hvor triploid fisk har vist høyere frekvens av misdannelser sammenlignet med diploid fisk av samme art. Tabellen er tilpasset fra Fraser m.fl. (2012).

Deformitet	Art	Kilde
Kjeve	Atlantisk laks (<i>Salmo salar</i>)	O'Flynn m.fl., 1997; Sadler m.fl., 2001; Lijalad & Powell, 2009
Sammenvokste ryggvirvler	Atlantisk laks (<i>Salmo salar</i>)	Fraser m.fl., 2013
Gjellefilament	Atlantisk laks (<i>Salmo salar</i>)	Sadler m.fl., 2001
Katarakt (grå stær)	Atlantisk laks (<i>Salmo salar</i>)	Oppedal m.fl., 2003; Leclercq m.fl., 2011
Svømmeblære	<i>Heteropneustes fossilis</i>	Tiwary & Ray, 2004a
Lordose/kyfose	Atlantisk torsk (<i>Gadus morhua</i>)	Opstad m.fl., 2013

Stress

Biron og Benfey (1994) fant ingen signifikant forskjell i stressparametere som hematokrit, kortisol og glukose i plasma etter fem minutter med akutt stress hos diploid og triploid bekkerøye. Dette resultatet støttes videre opp av Benfey og Biron (2000) som ikke fant signifikant forskjell i stressrespons mellom diploid og triploid regnbueørret og bekkerøye. Heller ikke Sadler m.fl. (2000) fant forskjeller i primære og sekundære stressresponser mellom diploid og triploid atlantisk laks. De foreslo dermed at lav overlevelse hos triploid atlantisk laks sammenlignet med diploide ikke kan forklares med ulike fysiologiske responser i perioder med stress (opptil 6 timer med stress) (Sadler m.fl., 2000).

Ut fra disse studiene virker det som diploid og triploid laksefisk viser de samme responsene etter akutt stress (Biron & Benfey, 1994; Benfey & Biron, 2000; Sadler m.fl., 2000; Fraser m.fl., 2012). Triploid fisk har imidlertid vist lavere overlevelse under kronisk stress forårsaket av for høy vanntemperatur og salinitet (Benfey, 2011).

Adferd

En rekke studier har rapportert redusert aggressivitet hos triploid laksefisk sammenlignet med diploid laksefisk når de oppdrettes sammen (Benfey, 1999; Garner m.fl., 2008; Fraser m.fl., 2012). Årsaken er uklar, men det kan enten skyldes forandringer i triploide sitt sanse- og nervesystem eller en reduksjon av androgener (Benfey, 1999). Enkelte mener den reduserte aggressiviteten kan være en grunn til at triploide vokser dårligere når triploid og diploid fisk oppdrettes sammen, da de har en roligere og mer underdanig adferd og dermed ikke får like god mattilgang (Benfey, 1999). Redusert aggressivitet kan også føre til høyere nivåer av kortisol, noe som videre kan gi redusert vekstrate og fôreffektivitet, samt nedsatt immunfunksjon (Garner m.fl., 2008). Til tross for at Garner m.fl. (2008) fant at triploid stillehavslaks (*Oncorhynchus tshawytscha*) hadde lavere aggressivitet enn diploide individer, påvirket ikke dette vekst- eller fôrintaksraten mellom diploide og triploide individer.

1.6. Svømmekapasitet hos diploid og triploid fisk

Det eksisterer store forskjeller i svømmeferdighetene blant forskjellige fiskearter. Mange arter har utviklet spesialiststrategier i svømmingen sin, blant annet avhengig av hvilke byttedyr de jakter på og hvilket habitat de lever i (Reidy m.fl., 2000). For eksempel er gjedden (*Esox lucius*) en akselerasjonsspesialist som raskt kan komme opp i høy hastighet, men den er en svak utholdenhetssvømmer (Reidy m.fl., 2000). Det eksisterer også generelle svømmere, for eksempel regnbueørret. Den er verken akselerasjons- eller utholdenhetsspesialist, men utfører begge svømmemetodene rimelig godt (Reidy m.fl., 2000). Atlantisk torsk er også en generalist som kan ha lange vandringer (over 1000 km), gyter pelagiske egg rett i vannmassene og kan unngå trålere (Reidy m.fl., 2000).

Aerob svømmekapasitet

Siden triploid fisk har større røde blodceller enn diploid fisk (Benfey, 1999; 2011), har det vært foreslått at effektiviteten av oksygenopptak over gjellene og oksygenavlastning til metabolske vev hos triploid fisk kan være lavere enn hos diploid fisk (Stillwell & Benfey, 1997). En slik reduksjon i oksygenutveksling kan være med på å redusere den aerobe kapasiteten (Stillwell & Benfey, 1997).

Kritisk svømmehastighet (U_{crit}), som er et mål på aerob kapasitet, har blitt testet på triploid sølv laks (Small & Randall, 1989), regnbueørret (Virtanen m.fl., 1990), bekkerøye (Stillwell & Benfey, 1997) og *Pomoxis annularis* av Parson (1993, referert i Stillwell & Benfey 1997, 652). Small og Randall (1989) fant ingen signifikant forskjell i U_{crit} mellom diploid og triploid sølv laks, men foreslo at dette resultatet kunne være artsspesifikt. Virtanen m. fl. (1990) konkluderte derimot med at triploid regnbueørret hadde en lavere aerob kapasitet enn diploid regnbueørret. Man må være kritisk til denne konklusjonen da dette resultatet kan skyldes kronisk stress (Benfey, 1999), eller at de triploide fiskene brukt i forsøket hadde lavere hematokritnivå enn de diploide fiskene (Stillwell & Benfey, 1997; Lijalad & Powell, 2009). Det lavere hematokritnivået hos triploid regnbueørret vist i Virtanen m.fl. (1990) sin studie er unormalt da andre studier har rapportert likt hematokritnivå mellom diploid og triploid fisk (Benfey, 1999). Stillwell og Benfey (1997) mener det lavere hematokritnivået er årsaken til Virtanen m.fl. (1990) sitt resultat, de skriver: "Jones (1971) found that a reduction in haematocrit to 47% of normal resulted in a 34% reduction in maximum swimming speed. It is, therefore, not surprising that triploids in the Virtanen *et al.* (1990) study had a lower aerobic capacity than diploids. Concluding that triploids have a reduced aerobic capacity on the basis of results obtained from these atypical triploids is unwarranted" (Stillwell & Benfey, 1997, side 652).

For å belyse nærmere disse motstridende resultatene om aerob kapasitet mellom diploid og triploid fisk, gjennomførte Stillwell og Benfey (1997) en svømmetest på bekkerøye. De fant ingen signifikant forskjell i den kritiske svømmehastigheten mellom diploid og triploid bekkerøye, og konkluderte dermed med at triploiditet ikke er assosiert med redusert aerob kapasitet. Dette resultatet foreslår også at Small og Randall (1989) sine resultater sølv laks ikke er artsspesifikt, men kan gjelde for all laksefisk generelt. Dette støttes videre opp av Lijalad og Powell (2009) som ikke fant noen signifikant forskjell i kritisk svømmehastighet mellom triploid og diploid atlantisk laks (den triploide fisken brukt i forsøket hadde underkjeve-deformiteter, restitusjonen etter utmattelse ble negativt påvirket av deformiteten). Parson (1993, referert i Stillwell & Benfey 1997, 652) fant ingen signifikant forskjell mellom diploid og triploid *Pomoxis annularis*, noe som muligens kan tyde på at aerob kapasitet er lik for all diploid og triploid fisk. I tillegg er tid til utmattelse under konstant svømming lik mellom diploid og triploid *Carassius auratus langsdorfi* (Sezaki m.fl., 1991), noe som videre støtter at aerob

kapasitet er lik mellom diploid og triploid fisk (Benfey, 1999).

En mulig forklaring på hvorfor det antageligvis ikke eksisterer noen forskjell i aerob kapasitet mellom diploid og triploid fisk er at triploide individer har fysiologiske mekanismer som gjør at aerob kapasitet ikke reduseres til tross for redusert gassutveksling:

- Triploide individer har lavere metabolsk rate (lavere oksygenbehov) enn diploide individer. Lavere oksygenbehov vil dermed kompensere for reduksjonen i gassutvekslingen (Stillwell & Benfey, 1997).
- Størrelsesforskjellen mellom de røde blodcellene til diploide og triploide individer påvirker ikke gassutvekslingen så mye som antatt (Stillwell & Benfey, 1997).
- De røde blodcellene til triploid atlantisk laks er lengre og bredere enn diploide sine, men høyden (tykkelsen) er lik. Siden raten av hemoglobin-oksygenering bestemmes av tykkelsen til en celle, vil likheten i tykkelsen til diploide og triploide celler kanskje føre til lik gassutveksling (Small & Randall, 1989)

Anaerob svømmekapasitet

Fisk utsettes for anaerobe aktiviteter både i naturen og i oppdrett (Hyndman m.fl., 2003b). Anaerob kapasitet hos fisk kan undersøkes ved en såkalt høyintensiv akselerasjonstest (U_{burst} /spurttest) hvor fisken tvinges til å svømme mot en stadig økende vannstrøm til total utmattelse er nådd (Wood, 1991; Reidy m.fl., 2000). Under utmattende anaerob svømming benyttes primært de hvite musklene og det oppstår anaerob metabolisme (Milligan, 1996).

Reidy m.fl. (2000) gjennomførte en slik test på atlantisk torsk hvor individene ble utsatt for en økende vannstrøm med en akselerasjon på $0,1667 \text{ cm s}^{-2}$ frem til fisken var totalt utmattet. Vannstrømmen ved total utmattelse ble brukt som mål på fiskens svømmeevne. Resultatene viste at fisken hadde en gjennomsnittlig utmattelseshastighet på $103 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$, med minimum og maksimum utmattelseshastighet på henholdsvis 91 cm og $123 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ (S.E.M=2,28) (Reidy m.fl., 2000).

Det finnes en rekke metoder for å "trimme" fisken til utmattelse (Milligan, 1996). Den vanligste metoden er å jage fisken manuelt over en kort periode (vanligvis 5-10 minutter) frem til de ikke lenger er kapable til å spurt-svømme (Milligan, 1996;

Hyndman m.fl., 2003b). En annen metode er bruk av svømmetunnel hvor fisken svømmer motstrøms til den gir opp på grunn av utmattelse (Dobson & Hochachka, 1987; Schulte m.fl., 1992; Milligan, 1996). En tredje metode er bruk av krok og line hvor fisken utmattes etter omtrent 1-2 minutter (Milligan, 1996). Den første og tredje metoden kan fremme frykt eller stress, og grunnet dette har nevnte metoder vært noe kritisert. Likevel er metodene interessante siden de reflekterer livet til mange fiskearter, spesielt laksefisker som blir sportsfisket på (Milligan, 1996).

Utmattende høyintensitets spurtsvømming (U_{burst}) endrer en rekke fysiologiske og biokjemiske parametere og resulterer i metabolske og endokrine forstyrrelser samt forandringer i syre-base-balansen hos fisken (Milligan, 1996). Under utmattende svømming jobber de hvite musklene anaerobt, og cellenes drivstoff glykogen, kreatinfosfat og adenosintrifosfat (ATP) blir brukt. Glykogen, ATP og kreatinfosfat i hvit muskel blir brukt som energi til muskelkontraksjoner, og graden av nedgangen av disse parameterne kan variere med graden av utmattelse (Wood, 1991; Milligan, 1996). Samtidig som energilagrene blir brukt dannes det endeprodukter som laktat, H^+ , kreatin, P_i , NH_4^+ og inosinmonofosfat (IMP) (Dobson & Hochachka, 1987; Wood, 1991; Milligan, 1996). Økningen av H^+ -konsentrasjonen vil føre til en nedgang i pH i hvit muskel (Milligan, 1996). Noe av syren og laktatet som produseres i hvit muskel vil entre blodet og dette fører til en økning i laktatnivået i blodet og en nedgang i blodets pH (Milligan, 1996). Laktatnivået i blodet stiger ikke like mye, eller like fort, som laktatnivået i muskel (Wood, 1991). Nedgangen i blodets pH skyldes en kombinasjon av metabolsk (økning av H^+) og respiratorisk acidose (økning av CO_2) (Wood, 1991; Milligan, 1996). Ioniske og osmotiske forstyrrelser vil også finne sted, blant annet ved at konsentrasjonen til plasmaelektrolyttene klorid og natrium øker (Wood, 1991). I tillegg kan man se en økning av adrenalin, noradrenalin og kortisol etter utmattende svømming (Milligan, 1996). Etter utmattende svømming vil fisken befinne seg i en restitusjonsperiode. Under denne perioden er målet å gjenopprette de normale fysiologiske og biokjemiske verdiene med så lav metabolsk rate som mulig (Wood, 1991).

Det faktum at triploide har større røde blodceller enn diploide kan bidra til å påvirke en rekke fysiologiske og biokjemiske prosesser (Hyndman m.fl., 2003b). Det er spekulert i om økt celledørrelse kan redusere utmattelseshastigheten og øke restitusjonstiden etter utmattende svømming (Hyndman m.fl., 2003b). Hyndman m.fl. (2003b) la frem en hypotese om at triploid bekkørøye ville bruke lenger tid på å restituere seg etter

utmattende svømming enn diploid fisk av samme art grunnet deres forstørrede røde blodceller. For å teste denne hypotesen målte de blant annet laktat, glukose og osmolalitet i plasma samt de hvite musklernes energilagere (glykogen, kreatinfosfat og ATP). Disse parameterne ble målt både før og rett etter utmattede svømming, samt under restitusjon 2 og 4 timer etter svømming. Deres resultater viste at triploide ikke hadde redusert restitusjonsevne sammenlignet med diploide etter utmattende svømming.

1.7. Problemstilling

I oppdrettssammenheng er en fisks evne til restitusjon etter utmattende svømming (forårsaket av for eksempel panikksvømming under håving eller pumping) interessant, blant annet fordi dette kan tenkes å påvirke vekst, overlevelse og mottakelighet for sykdom. Siden triploidisering er en potensiell framtidig strategi i oppdrett av torsk, ønsket vi å finne ut om triploid atlantisk torsk har redusert anaerob svømmekapasitet og restitusjonsevne etter utmattende svømming, sammenlignet med diploid torsk. For å undersøke dette målte vi hematokrit, laktat i blod, glukose og klorid i plasma, osmolalitet i plasma og hvit muskel, samt glukose, glykogen og laktat i muskel og lever før, rett etter utmattende svømming og under restitusjon 1, 2, 4 og 8 timer etter utmattelse.

2. MATERIALE OG METODER

2.1. Forsøksfisk

Diploid og triploid atlantisk torsk alet opp ved den nasjonale torskeavlsstasjonen i Kraknes (Tromsø, Troms, 70°N, 19°E) ble benyttet i forsøkene. De var av årsklasse 2011 (2+) og hadde gjennomsnittlig vekt og lengde på henholdsvis 1,5 kg og 53 cm. Atlantisk torsk av årsklasse 2008 (også alet opp på torskeavlsstasjonen) ble benyttet til å produsere individene brukt i forsøket. Disse fiskene var andre generasjon oppdrettstorsk, 3 år gamle og veide 3-4 kg.

De triploide individene ble produsert ved å utsette befruktede egge for hydrostatisk trykksjokk på 560 bar i 5 minutter (TRC-HPC™ trykkmaskin, TRC Hydraulics Inc., New Brunswick, Canada). Trykksjokket foregikk 50 minutter etter fertilisering ved 3,6°C (180°min) (Trippel m.fl., 2008). Etter trykksjokket ble eggene overført til inkubatorer (50 L) og inkubert frem til klekking med vertikal og oppadgående vannstrøm på 1,5 L·min⁻¹. Etter klekking ble larvene overført til 250 L larvetanker og oppdrettet etter standardprosedyrer til det nasjonale avlsprogrammet for torsk. Larvene ble startfôret med rotatorier (*Branchinous plicatilis*) og artemia (*Artemia salina*) frem til tilvenning til tørrfôr. Da fisken var omtrent 20 gram ble de individuelt PIT-merket og overført til matfisktanker. Da de var omtrent 30 gram ble de overført til Havbruksstasjonen i Tromsø (HiT) sitt sjøanlegg i Skulgambukt (januar 2012). Samme prosedyre ble fulgt for produksjonen av diploide individer, med unntak av trykksjokket.

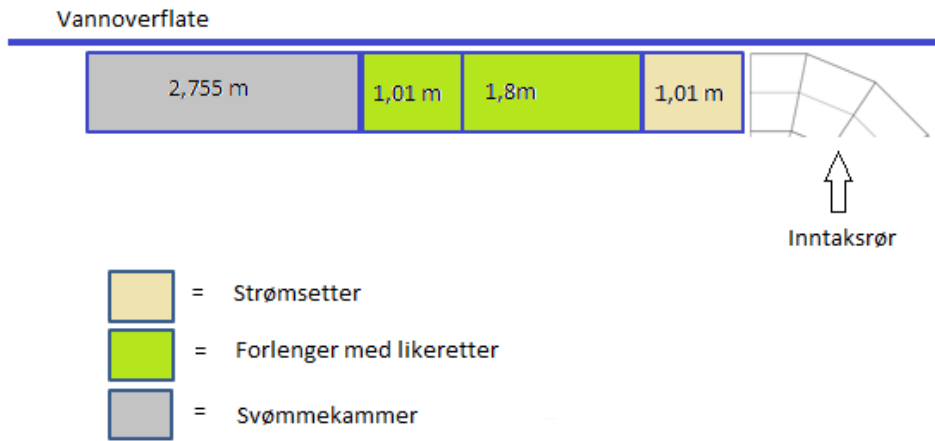
Atlantisk torsk ble transportert i to etapper fra HiT sitt sjøanlegg i Skulgambukt til landanlegget i Kårvika på Ringvassøy (Tromsø, Troms, 70°N, 19°E). Første etappe fant sted 16.7.2013, hvor omtrent 200 individer (~100 diploide, ~100 triploide) ble overført. Andre etappe fant sted 11.9.2013, hvor 153 individer ble overført. Transporten ble gjennomført puljevis med båten Kobben fra sjøanlegget til land, og videre i transporttanker (600 liter) på tilhenger til HiT sitt landanlegg. Fremme ved landanlegget ble fisken håvet over i to separate utendørskar (10 000 liter), diploide i kar I og triploide i kar II. Her ble fisken holdt frem til forsøkene fant sted i oktober-november samme år. Fisken ble behandlet etter standardprosedyrene ved landanlegget i Kårvika.

I perioden oktober-november ble det gjennomført svømmeforsøk på 121 individer (60 diploide, 61 triploide). Vi identifiserte ploiditeten til fiskene i forkant av forsøket ved bruk av flowcytometri (se seksjon 2.4: identifisering av ploiditet.). Fisken ble sultet 48 timer i forkant av forsøkene.

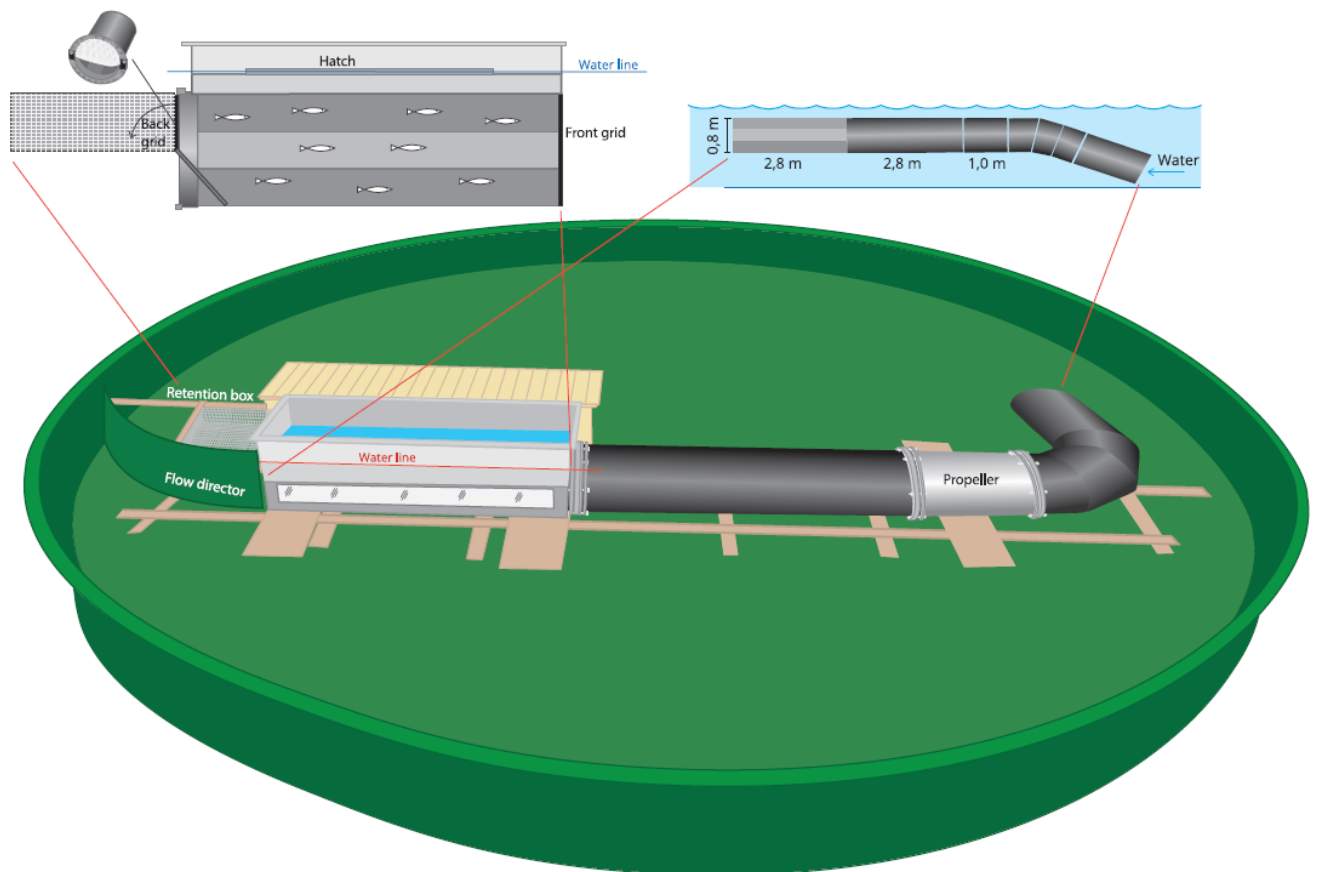
2.2. Forsøksfasiliteter

Svømmeforsøkene ble gjennomført i en svømmetunnel ved HiT sitt landanlegg (Figur 2 og 3). Svømmetunnelen ble spesialbygd av Marin Sveiseservice i Tromsø høsten 2012. Tunnelen befant seg i et utendørskar med en diameter på 10 meter. Tunnelen besto i hovedsak av fire deler: Inntaksrør, strømsetter, forlenger med likeretter og svømmekammer. Inntaksrøret var laget av runde PE-rør med en diameter på 80 cm og en lengde på 1,01 meter. Inntaksrøret hadde et bend som plasserte vanninntaket 45 cm under vannoverflaten for å minimere turbulensdannelse og hindre innsug av luft.

Strømsetteren var laget av aluminium og besto av en propell med en effekt på 5,5 kW og en maks RPM på 520. Forlengeren var som inntaksrøret laget av 80 cm diameter PE rør, og var 2,81 meter langt. I enden nærmest svømmekammeret var det plassert en likeretter med en lengde på omtrent 1 meter. Den var til stede for å skape en jevn vannstrøm. Svømmekammeret var laget av aluminium (2,755 meter langt), med et åttekantet tverrsnitt og en bredde og høyde på 0,8 m. Tverrsnittet av kammeret var 0,530 m², og volumet var 1,46 m³. Det var i svømmekammeret fisken befant seg under svømmeforsøkene. Under forsøkene varierte vanntemperaturen mellom 5,9 og 7,7°C, og oksygenmetningen mellom 89 og 93%.



Figur 2: Illustrasjon av svømmetunnelen sett fra siden. Svømmetunnelen var plassert i et utendørskar på 10 diameter. Illustrasjon av forfatter.



Figur 3: Illustrasjon av svømmetunnelen i utendørskaret sett ovenfra. Illustrasjonen er laget av Frøydis Strand ved Institutt for Arktisk og Marin biologi.

2.3. Forsøksdesign

Forsøkene ble gjennomført i tidsrommet oktober-november (Tabell 4). Forsøksfisken ble puljevis håvet over i kammeret i svømmetunnelen en dag i forkant av svømmeforsøket. Svømmeforsøkene ble gjennomført i fire puljer (pulje 1 (2n-I, n=25), pulje 2 (3n-I, n=25), pulje 3 (3n-II, n=26) og pulje 4 (2n-II, n=25).

Under svømmeforsøket ble fisken utsatt for en konstant akselererende vannstrøm. I litteraturen beskrives dette som en U_{burst} -test (Reidy m.fl., 2000). Under en slik test tvinges fisken til å svømme mot en stadig økende vannstrøm helt til den er totalt utmattet. I vårt forsøk økte strømhastigheten fra 10 til 120 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ over 11 minutter med en akselerasjon på 0,1667 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-2}$. Totalt var det 10 individer som svømte til maksimal hastighet (120 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$), hvor alle ble utmattet i løpet av 90 sekunder. I bakenden av kammeret var det en gitterport som fisken la seg inntil da den var utmattet. Om den ikke reagerte på berøring, ble den regnet som totalt utmattet. Gitterporten ble da åpnet og fisken gled over i et oppholdsbur bak svømmekammeret. Den ble så håvet derfra over i separate bur (60 x 30 x 20 cm), eller umiddelbart avlivet og prøvetatt. Burene var merket med hvor lenge hver fisk skulle restituere seg før den ble avlivet og tatt prøver av. Restitusjonstiden var henholdsvis 0 (umiddelbart avlivet), 1, 2, 4 og 8 timer etter utmattende svømming. Hver restitusjonsgruppe besto av 5 individer fra hver pulje, med unntak av pulje 3 hvor 6 individer fikk restituere seg i 8 timer før avliving (gruppe 3n-II, 8t). I forkant av svømmeforsøkene ble det tatt blodprøver av 10 diploide og 10 triploide kontrollfisk. De hadde oppholdt seg i samme kar som forsøksfisken. Tidsplanen over svømmeforsøkene er vist i Tabell 4.

Tabell 4. Tidsplan og oversikt over svømmeforsøkene og restitusjonsgruppene. **2n-K**: Kontroll, diploid gruppe, n=10. **3n-K**: Kontroll, triploid gruppe, n=10. **2n-I**: diploide, pulje 1, n=25. **3n-I**: triploide, pulje 2, n=25. **3n-II**: triploide, pulje 3, n=26. **2n-II**: diploide, pulje 4, n=25.

Dato	Hva ble gjort	Restitusjonsgrupper
28.10.2013	Blodprøver ble tatt av 2n-K og 3n-K Pulje 1: 2n-I ble overført til svømmetunnelen	
29.10.2013	Pulje 1: 2n-I ble kjørt Pulje 2: 3n-I ble overført til svømmetunnelen	2n-I 0t n=5 2n-I 1t n=5 2n-I 2t n=5 2n-I 4t n=5 2n-I 8t n=5
30.10.2013	Pulje 2: 3n-I ble kjørt	3n-I 0t n=5 3n-I 1t n=5 3n-I 2t n=5 3n-I 4t n=5 3n-I 8t n=5
11.11.2013	Pulje 3: 3n-II ble overført til svømmetunnelen	
12.11.2013	Pulje 3: 3n-II ble kjørt Pulje 4: 2n-II ble overført til svømmetunnelen	3n-II 0t n=5 3n-II 1t n=5 3n-II 2t n=5 3n-II 4t n=5 3n-II 8t n=6
13.11.2013	Pulje 4: 2n-II ble kjørt	2n-II 0t n=5 2n-II 1t n=5 2n-II 2t n=5 2n-II 4t n=5 2n-II 8t n=5

Etter avliving ble det tatt blodprøver av alle individene. Blodprøvene ble tatt ved å føre en kanyle og en passende vakuumbeholder (Vacutainer®) inn i haleblodårene bak fiskens gattfinne.

Laktatnivået i blodet ble undersøkt med et håndholdt laktatanalyseinstrument (Lactate Scout, AkuMed). Instrumentet hadde en nedre deteksjonsgrense på 0,4 mmol·L⁻¹. I tilfeller hvor laktatnivået i blodet var 0,4 mmol·L⁻¹ eller lavere ble verdiene erstattet

med deteksjonsgrensen (0,4) delt på kvadratroten av 2. Dette tallet tilsvarte 0,28. Det er bedre å erstatte verdier under deteksjonsgrensen med deteksjonsgrensen delt på kvadratroten av 2, fremfor for eksempel 0, deteksjonsgrensen eller snittet av de to fordi dette vil gi en lavere generell feilrate (Croghan & Egeghy, 2003). Blodet ble også analysert for glukose med et FreeStyle Lite analyseapparat (Produseres av Abbott <https://www.abbottdiabetescare.com/>).

Hematokrit ble målt umiddelbart etter blodprøvetaking ved at noe av blodprøven ble overført til kapillærrør, tettet med kitt (Vitrex) og sentrifugert (Hettich EBA 12). Etter sentrifugeringen dannet det seg tre væskefaser i røret: Plasma øverst, hvite blodceller i midten og røde blodceller i bunnen. De tre fasene ble målt ved hjelp av et skyvelære. Andelen røde blodceller (hematokrit) ble så beregnet ved å dividere høyden av de røde blodcellene med den totale høyden av de tre væskefasene. Deretter ble det resterende av blodprøvene sentrifugert i en kjølesentrifuge (Sorvall RC 5B) for å separere plasma og blodceller. Plasmaet ble overført til 1,5 ml eppendorfrør og fryst ned (-80°C).

Etter blodprøvetakingen ble fisken lengdemålt og veid både før og etter sløying. Gonadevekt og levervekt ble notert. Det ble tatt muskelprøver og leverprøver. Muskelprøvene ble tatt like ved siden av fiskens ryggfinne, delt i tre omtrent like store biter og lagt i separate 2 ml kryorør. Leverprøvene ble tatt fra enden av den største av de to delene av leveren og lagt i et 2 ml kryorør. Muskel- og leverprøvene ble deretter fryst ned (-80°C).

2.4. Laboratorieanalyser

Analysene fant sted i tidsrommet mars-august 2014 (med unntak av ploiditetsanalysene som ble gjort høsten 2013) på Norges Fiskerihøgskole i Tromsø. Alle prøvene ble oppbevart kaldere enn -30°C fra forsøkene fant sted.

Identifisering av ploiditet

Vi identifiserte ploiditeten til fiskene i forkant av svømmeforsøket ved bruk av flowcytometri med Propidium Iodide (PI) (Peruzzi m.fl., 2009). Vevsprøver fra fiskens gjeller ble brukt til å analysere ploiditeten. Frosne gjelleprøver (-80°C) ble tatt ut én etter én fra fryseren, og 1 ml PI-løsning ble pipettert opp og ned i prøven helt til den var

smeltet. Det var veldig viktig at gjelleprøvene smeltet i PI-løsningen. Deretter ble prøvene filtrert over et 20 µL filter og over til et flowcytometri-rør. Prøvene ble oppbevart i kjøleskap (4°C) i 1 time før de ble analysert. Prøvene ble analysert tilfeldig i flowcytometer (CyFlow® ploidanalyser, PARTEC GmbH, Münster, Tyskland).

Flowcytometri estimerer mengden nukleært DNA ved farging av cellene med et DNA-spesifikt fluorokrom (i dette tilfelle PI-løsning) og analyserer individuelt for fluorescens, som er direkte proporsjonalt med cellekjernestørrelsen og mengden DNA. Triploide individer har 1,5 ganger så mye DNA i cellekjernen enn diploide. Under flowcytometri-analyse rettes en laserstråle mot cellekjernen, og cellekjernens skygge "måles". Triploide cellekjerner har større skygge og dermed høyere fluorescensintensitet. Ploiditet ble identifisert ved å beregne forholdet mellom den gjennomsnittlige fluorescensintensiteten. Dersom forholdet var $1,5 \pm 0,1$ ble individene regnet som triploide.

PI-løsningen ble tillaget i en 500 ml glassflaske på følgende måte (Tiersch m.fl., 1989):

- A. 50 mg EDTA i 50 ml PBS ("Phosphate-Buffered Saline")
- B. 25 mg RNase i 45 ml PBS
- C. 450 mg natriumsitrat i 450 ml dH₂O
- D. Blandet A+B+C = 500 ml
- E. Tilsatte 0,5 ml Triton X-100 til løsning D
- F. Tilsatte 25 mg Propidium Iodide (*Sigma, P4170-25MG*) til løsning E og blandet godt på magnetrører inntil alt PI-pulveret var oppløst

Flasken ble dekket til med aluminiumsfolie og oppbevart i kjøleskap (4°C).

Analyse av osmolalitet i plasma og hvit muskel

I forkant av analyse av osmolalitet i muskel ble muskelprøvene homogenisert på følgende måte: Omtrent 0,5 gram muskelprøve ble veid og overført til 14 ml Falcon-rør. 1 ml dH₂O ble tilsatt, og prøvene ble homogenisert med knivaggregat (Ultra-Turrax T8, Fisher Scientific) på hastighet 5-6 til alt vevet var homogent blandet (cirka 30 sekunder). Deretter ble prøvene sonikert med et ultralydapparat (Vibra Cell, Sonics & Materials, Inc., USA) i omtrent 10 sekunder for å sprengte cellene. Etter sonikeringen ble

prøvene sentrifugert på 4000 rpm i 10 minutter ved 2°C (Rotanta 460R, Hettich). Det dannet seg to lag i røret etter sentrifugeringen. Væskedelen ble pipettert over i 1,5 ml eppendorfrør som ble frosset på minst -30°C for senere analyse av osmolalitet.

Det ble gjennomført analyse av osmolalitet i plasma og muskel (Fiske 110 Osmometer, Advanced Instruments, Inc.). Osmometeret var kalibrert på forhånd. En standardløsning på 290 mOsm ble kjørt for å kontrollere osmometeret. Prøvene ble ristet godt i 10-15 sekunder (REAX 2000 Vortex, Heidolph) før 15 µL prøve ble pipettert over i en tube (Disposable Tubes, Advanced Instruments, Inc.) som ble plassert i osmometeret. Mellom hver prøve ble osmometeret rengjort med en liten bomullsdott (Probe Cleaners, Advanced Instruments, Inc.). Det ble kjørt en standardprøve for hver tiende prøve. Samme prøve ble kjørt helt til det var oppnådd to paralleller med relativ lik osmolalitet (± 3 mOsm). Gjennomsnittet av disse to parallellene (i noen tilfeller tre) ble brukt som osmolalitetsnivå.

Siden muskelprøvene var fortynnet med 1 ml vann under homogenisering, måtte det gjennomføres en justering av osmolalitetsnivået for muskel (se seksjon 2.5: utregninger).

Analyse av klorid i plasma

Det ble gjennomført analyse av klorid i plasma (Chloride Analyzer 925, Corning). Før analysene ble apparatet kalibrert. Dette ble gjort ved å tilsette syrebuffer til et bestemt merke på en liten glasskål som tilhørte kloridometeret sammen med 20 µL klorid standardløsning (Cl^- 100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). Løsningen ble satt i kontakt med elektrodene til kloridometeret, og "Condition"-knappen ble trykt inn. Deretter ble ytterligere 20 µL standardløsning tilsatt og "Titrate"-knappen ble trykt inn. Dette siste punktet ble gjennomført helt frem til kloridometeret viste 100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (± 3) 2 ganger etter hverandre.

Analysene ble gjennomført ved å pipettere 20 µL prøve over i bufferløsningen og trykke på "Titrate". Prøvene ble ristet godt først i 10-15 sekunder (REAX 2000 Vortex, Heidolph). Samme prøve ble kjørt helt til det var oppnådd to paralleller med relativ lik kloridnivå (± 3 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). Det ble kjørt standardprøver for hver tiende prøve, og apparatet ble kalibrert med jevne mellomrom. Mellom hver kalibrering ble elektrodene pusset med sølvpuss.

Analyse av glukose, glykogen og laktat i muskel og lever

I forkant av analysene ble muskel- og leverprøvene homogenisert og filtrert på følgende måte: Omtrent 0,5 gram vev (lever- eller muskelprøve) ble veid og overført til 14 ml Falcon-rør. 4,5 ml dH₂O ble tilsatt, og prøvene ble homogenisert med knivaggregat (Ultra-Turrax T8, Fisher Scientific) på hastighet 5-6 til alt vevet var homogent blandet (cirka 30 sekunder). Deretter ble 0,5 ml 35% vekt/volum SSA (sulfosalisylysyre) tilsatt for å felle ut proteiner og peptider, og homogenisering med knivaggregatet ble gjentatt på samme måte. Etter homogenisering ble prøvene sonikert i omtrent 10 sekunder for å sprengte cellene. Deretter ble de sentrifugert på 4000 rpm i 10 minutter ved 2°C (Rotanta 460R, Hettich). Det dannet seg to lag i røret etter sentrifugeringen. Væskedelen ble pipettert ut, og filtrert ved bruk av 0,45 µm filter (Acrodisc 25 mm Syringe Filters w/ 0,45 µm Supor Membrane, Pall Corporation), 2 ml BD Plastipak-sprøyte og 0,9 ml BD Microlane Kanyle. Prøvene ble trukket opp via filtret og inn i sprøyten, så sprøytet over i to separate 1,5 ml eppendorfrør som ble frosset på minst -30°C. Den ene prøven ble brukt til glykogenhydrolyse, og den andre til analyser av laktat og glukose.

Glykogenhydrolysen ble gjort for å hydrolysere bindingen mellom de to glukosemolekylene i hvert glykogenmolekyl, slik at glykogen kunne analyseres som glukose. Prosedyren krevde en natriumacetatbuffer (pH=4,7) som ble laget ved å blande 50 ml 1 M eddiksyre, 16,7 ml 3 M natriumacetat-løsning og 933,33 ml dH₂O. Deretter ble en hydrolyseløsning laget ved å blande 250 ml av tillaget natriumacetatbuffer med 6,5 µL amyloglukosidase (300 U/ml). Amyloglukosidase er et enzym som hydrolyserer bindingen mellom glukosemolekyler i karbohydrater som glykogen. De presenterte nivåene av glykogen kan derfor være noe forhøyet siden andre karbohydrater også kan ha påvirket nivået. Denne feilen antas riktignok å være minimal.

500 µL av tillaget hydrolyseløsning ble tilsatt til 100 µL prøve og ristet godt i 10-15 sekunder (REAX 2000 Vortex, Heidolph). Prøvene ble så inkubert i romtemperatur i 30 minutter, deretter fryst ned (kaldere enn -30°C) for videre analyser. Prosedyren er hentet fra Passonneu & Lauderdale VR (1974).

Analysene av glukose og laktat ble foretatt ved hjelp av et Maxmat PL II multianalyseinstrument (Maxmat S.A., Montpellier, Frankrike), basert på kolorimetrisk og enzymatisk analyse, og utført av Karl Erik Eilertsen på NFH. Til glukoseanalysen ble

analysesettet Glucose PAP (Maxmat SA, Montpellier, Frankrike) brukt og til laktat ble det brukt et Lactate LO-POD analysesett (Spinreact, Girona, Spania).

2.5. Databehandling og statistikk

All statistikk ble utført ved hjelp av programvaren R (The R Core Team, 2013). Shapiro-Wilkinson-test ble brukt for å teste om data var normalfordelt (Whitlock & Schluter, 2008). Dersom data ikke var forskjellig fra en normalfordeling ble det brukt ANOVA med F-test for å undersøke effekt av restitusjonstid, kjønn og ploiditet på måleparameterne (Whitlock & Schluter, 2008). Deretter ble det brukt t-test for å teste forskjeller mellom kjønn, diploid og triploid fisk og/eller forskjell mellom kontroll og restitusjonstidene, avhengig av hvilke av disse parameterne som ble funnet å ha effekt i ANOVA. Her ble det benyttet Tukey's korrigerings for mange sammenlikninger (Whitlock & Schluter, 2008). Disse data blir presentert som LSmeans (Lenth, 2013) og 95% konfidensintervall for hver gruppe, avhengig av hvilke av faktorene kjønn, ploiditet og restitusjonstid som hadde effekt på den aktuelle måleparameteren.

Hvis data ikke var normalfordelte, ble ikke-parametrisk statistikk brukt. Kruskal-Wallis- eller Wilcoxon-test ble brukt for å teste effekt av kjønn, ploiditet og restitusjonstid på måleparameterne (Whitlock & Schluter, 2008). For sammenlikning av restitusjonsgrupper ble nparcomp-pakken i R benyttet (Konietschke, 2012). Disse data blir presentert som median og 95% konfidensintervall for hver gruppe, avhengig av hvilke av faktorene kjønn, ploiditet og restitusjonstid som hadde effekt på den aktuelle måleparameteren.

I dette forsøket var vi kun interessert i forskjeller mellom diploide og triploide individer og/eller restitusjonstider. Derfor presenteres kun gjennomsnitt/medianverdi for hver restitusjonstid og/eller ploiditet for hver parameter, mens kofaktorer som lengde, vekt, kondisjonsfaktor og kjønn korrigeres for uten at det kommer frem i presentasjonen av data. Der det ikke ble funnet forskjeller mellom diploid og triploid fisk eller forskjeller mellom kontrollgruppe og restitusjonsgrupper er data slått sammen. Forskjeller i svømmehastighet ble testet mellom de fire puljene kjørt i svømmeforsøket. Pulje 1 (diploide) og pulje 2 (triploide) var signifikant forskjellige, men siden de to puljene var av forskjellig ploiditet var ikke denne forskjellen interessant for å

undersøke effekten av pulje. Pulje ble derfor utelatt fra de statistiske analysene. En p-verdi lik eller lavere enn 0,05 har blitt regnet som signifikant.

Utrekninger

Følgende formel ble benyttet for å beregne osmolalitetnivået i muskel:

$$\text{Reell osmolalitet} = \frac{\text{totalvekt}(g)}{\text{muskelvekt}(g)} \cdot mOsm$$

hvor $mOsm$ er verdien fra osmometeret og totalvekt er muskel (g) + H₂O (ml). Her går en ut fra at 1 ml = 1 g, altså 1 ml H₂O = 1 g H₂O.

Eksempelvis hadde prøve nummer 56 en osmolalitet på 105 fra osmometeret og veide 0,4197 gram og da ble regnestykket seende slik ut:

$$\text{Reell osmolalitet} = \frac{0,4197 \text{ g} + 1 \text{ g } H_2O}{0,4197 \text{ g}} \cdot 105 mOsm = \frac{1,4197 \text{ g}}{0,4197 \text{ g}} \cdot 105 mOsm = 355 mOsm$$

Samtlige muskelprøver ble regnet ut på denne måten i Excel.

3. RESULTATER

3.1. Kroppsstørrelse

Kjønn hadde signifikant effekt på lengde og vekt ($p < 0,01$). Når ploiditet var slått sammen var hunnene (f) signifikant lengre og tyngre enn hannene (m) (Tabell 5). Ploiditet hadde også signifikant effekt på lengde og vekt ($p < 0,001$). Når kjønn var slått sammen var diploide individer (2n) signifikant lengre og tyngre enn triploide individer (3n) (Tabell 5). Vi fant også en liten, men signifikant, forskjell i kondisjonsfaktor mellom diploid (1,06) og triploid (1,00) fisk ($p < 0,05$).

Tabell 5. Gjennomsnittlig lengde og vekt til atlantisk torsk for hvert kjønn når diploide og triploide er slått sammen og for diploide og triploide når kjønn er slått sammen. Verdiene er oppgitt som gjennomsnitt med 95% konfidensintervall ($n=101$). Hunnene er signifikant lengre og tyngre enn hannene, og diploide er signifikant lengre og tyngre enn triploide.

	Lengde (cm)	Vekt (g)
f	54,2 (53,4-54,9)	1637 (1559-1715)
m	51,9 (51,2-52,7)	1462 (1382-1543)
2n	54,0 (53,3-54,8)	1679 (1600-1759)
3n	52,0 (51,3-52,8)	1420 (1341-1499)

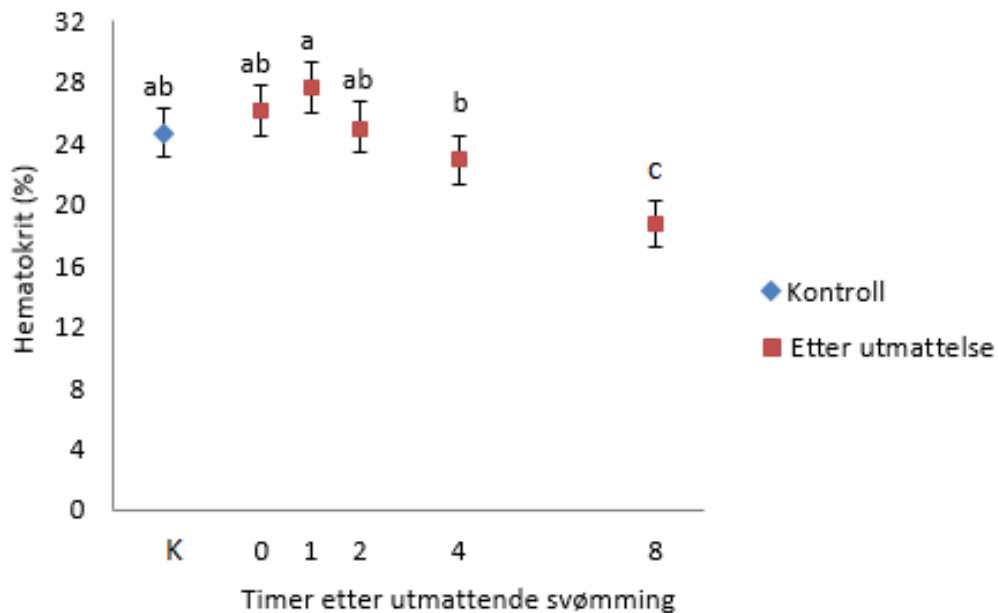
3.2. Svømmekapasitet

Det ble ikke funnet noen signifikant forskjell i gjennomsnittlig utmattelsessvømmehastigheten mellom diploid og triploid atlantisk torsk. Diploid og triploid atlantisk torsk hadde en utmattelsessvømmehastighet på henholdsvis 98 (95% KI: 94-103) og 95 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ (95% KI: 91-99). Diploide og triploide individer hadde altså lik utmattelsessvømmehastighet under forsøket. Maks utmattelsessvømmehastighet var 120 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$, som ble oppnådd av i alt 10 individer. Lengde ($p < 0,01$) og kondisjonsfaktor ($p < 0,05$) hadde signifikant effekt på svømmehastigheten (positiv korrelasjon).

3.3. Blodparametere

Hematokrit

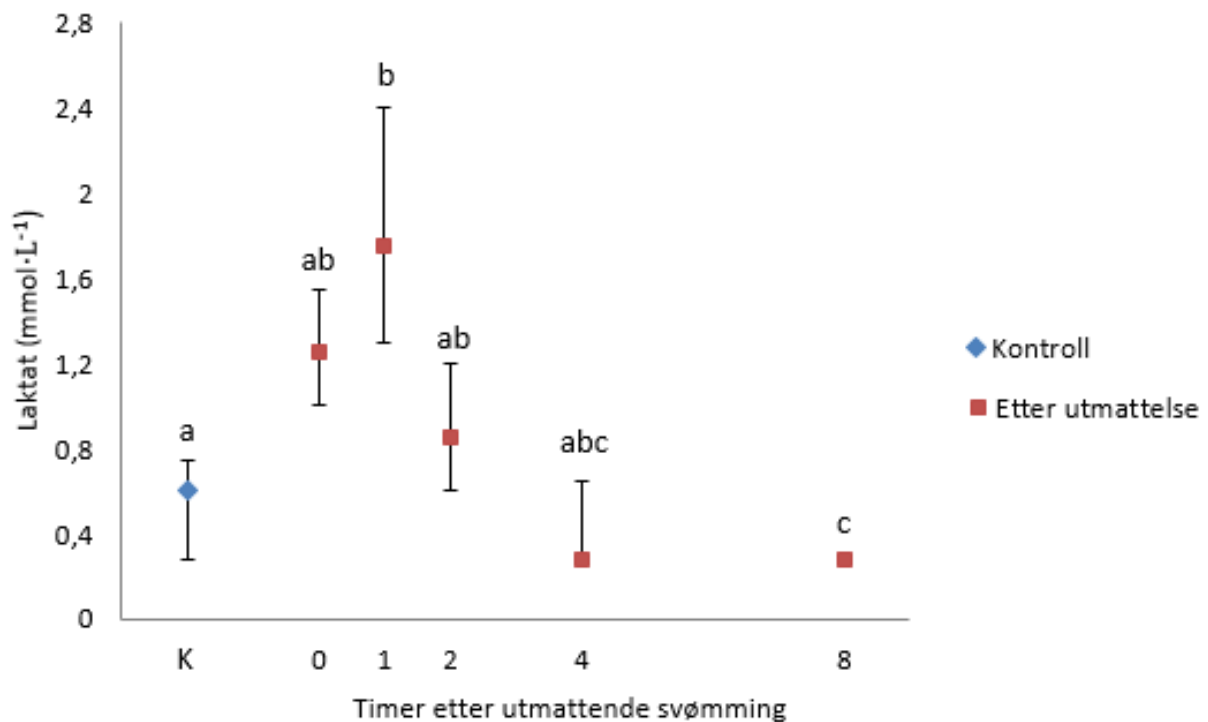
Vi fant ingen signifikant forskjell i hematokrit mellom diploide og triploide individer (Tabell 8). Vi fant heller ingen signifikant forskjell i nivået før (kontrollgruppe) og rett etter (0-timersgruppe) utmattende svømming (Figur 4). Fisken som hadde fått restituert seg i 8 timer hadde signifikant lavere nivå enn alle de andre gruppene ($p < 0,01$). 4-timersgruppen hadde signifikant lavere hematokrit enn 1-timersgruppen ($p = 0,001$). Både kjønn ($p < 0,001$) og lengde ($p < 0,01$) hadde signifikant effekt på hematokrit.



Figur 4. Hematokrit hos atlantisk torsk under restituering etter utmattende svømming. K representerer kontrollfisk som ikke har vært utsatt for svømming. Hvert datapunkt er oppgitt som gjennomsnitt med 95% konfidensintervall. Kontroll: $n=20$, 0-timersgruppen: $n=20$, 1-timersgruppen: $n=20$, 2-timersgruppen: $n=20$, 4-timersgruppen, $n=20$, 8-timersgruppen: $n=21$. Restitusjonstider uten samme bokstav(er) er signifikant forskjellig.

Laktat i blod

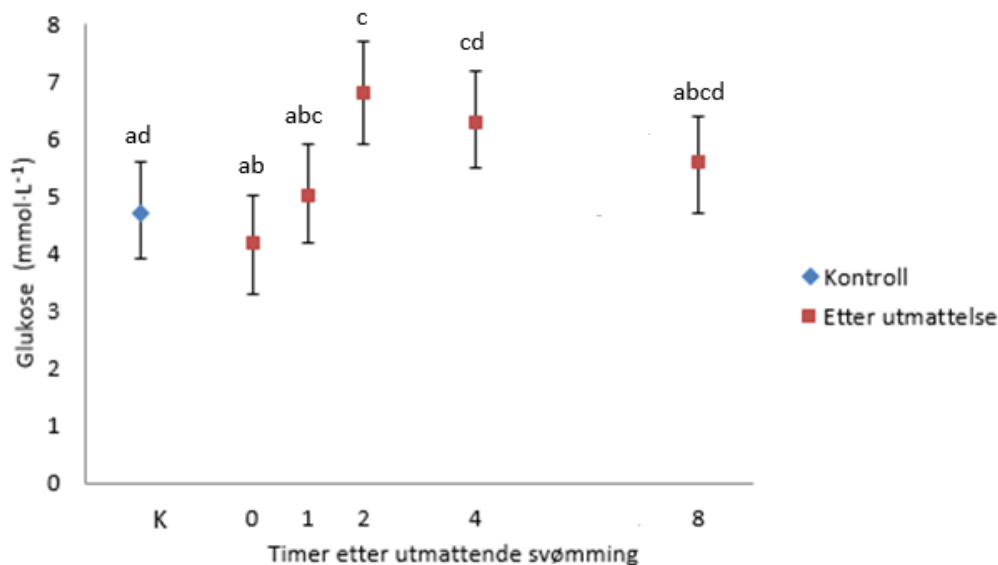
Vi fant ingen signifikant forskjell i laktatnivået i blodet mellom diploide og triploide individer (Tabell 8). Laktat i blodet økte under svømming og etter 1 time restitusjon var laktatnivået signifikant høyere enn før svømming ($p=0,04$) (Figur 5). Etter bare 2 timer var nivået tilbake til kontrollnivå igjen. Fisken som hadde restituert seg i 8 timer hadde signifikant lavere nivå enn både kontrollfisken, 0-, 1- og 2-timersgruppen ($p<0,05$).



Figur 5. Laktat i blodet hos atlantisk torsk under restituering etter utmattende svømming. K representerer kontrollfisk som ikke har vært utsatt for svømming. Hvert datapunkt er oppgitt som median med 95% konfidensintervall. Kontroll: $n=20$, 0-timersgruppen: $n=20$, 1-timersgruppen: $n=20$, 2-timersgruppen: $n=20$, 4-timersgruppen, $n=20$, 8-timersgruppen: $n=21$. Restitusjonstider uten samme bokstav(er) er signifikant forskjellig.

Glukose i plasma

Vi fant ingen forskjeller i glukose i plasma mellom diploid og triploid fisk, men vi fant forskjeller mellom restitusjonstider ($p=0,004$) (Tabell 8). Sammenhengen mellom glukose i plasma og restitusjonstid kommer frem i Figur 6. Det var ingen signifikant forskjell mellom kontrollgruppen og 0-timersgruppen. Nivået steg etter hvert som restitusjonstiden økte, og nådde en topp etter 2 timer restituering. Fisken som hadde restituert seg i 2 timer etter utmattende svømming hadde signifikant høyere glukosenivå i plasma enn kontrollgruppen ($p=0,02$). Deretter sank nivået, 4- og 8-timersgruppen var ikke signifikant forskjell fra kontrollen. 0-timersgruppen hadde signifikant lavere nivå enn 2- og 4-timersgruppene ($p<0,01$). Kondisjonsfaktor hadde signifikant effekt på glukosenivå i plasma ($p=0,03$).

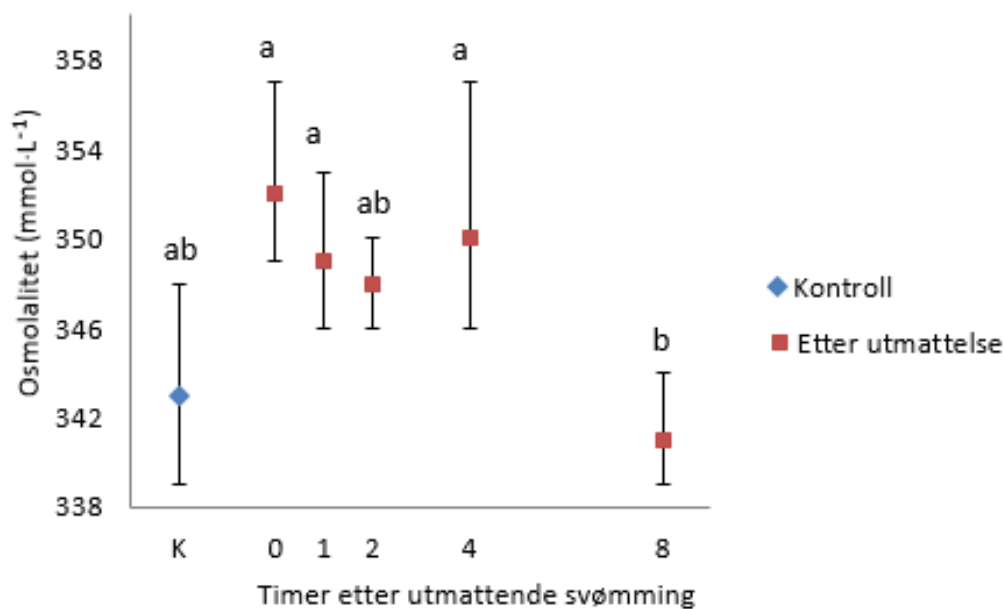


Figur 6. Glukose i plasma hos atlantisk torsk under restituering etter utmattende svømming. K representerer kontrollfisk som ikke har vært utsatt for svømming. Hvert datapunkt er oppgitt som gjennomsnitt med 95% konfidensintervall. Kontroll: $n=20$, 0-timersgruppen: $n=20$, 1-timersgruppen: $n=20$, 2-timersgruppen: $n=20$, 4-timersgruppen, $n=20$, 8-timersgruppen: $n=21$. Restitusjonstider uten samme bokstav(er) er signifikant forskjellig.

3.4. Osmolalitet i plasma og hvit muskel og klorid i plasma

Osmolalitet i plasma

Vi fant ingen signifikant forskjell i osmolalitet i plasma mellom diploid og triploid fisk. Vi fant derimot en effekt av restitusjonstid ($p=0,02$) (Tabell 8). Vi fant ingen signifikant forskjell mellom kontrollgruppen og restitusjonsgruppene, men det var en forskjell mellom 8-timersgruppen og 0-, 1- og 4-timersgruppen (Figur 7). Både 0-, 1- og 4-timersgruppen hadde signifikant høyere nivå av osmolalitet i plasma enn 8-timersgruppen ($p<0,05$). 2-timersgruppen var ikke signifikant forskjellig fra 8-timersgruppen ($p=0,09$).



Figur 7. Osmolalitet i plasma hos atlantisk torsk under restituering etter utmattende svømming. K representerer kontrollfisk som ikke har vært utsatt for svømming. Hvert datapunkt er oppgitt som median med 95% konfidensintervall. Kontroll: $n=20$, 0-timersgruppen: $n=20$, 1-timersgruppen: $n=20$, 2-timersgruppen: $n=20$, 4-timersgruppen, $n=20$, 8-timersgruppen: $n=21$. Restitusjonstider uten samme bokstav(er) er signifikant forskjellig.

Klorid i plasma og osmolalitet i hvit muskel

Vi fant ingen signifikant effekt av verken ploiditet eller restitusjonstid på klorid i plasma eller osmolalitet i hvit muskel (Tabell 8). Gjennomsnittene er presentert for hver ploiditet i Tabell 6. Vi fant en signifikant korrelasjon mellom klorid og osmolalitet i plasma, men den var ikke særlig sterk. Kondisjonsfaktor hadde signifikant effekt på klorid i plasma ($p=0,02$).

Tabell 6. Klorid i plasma og osmolalitet i hvit muskel hos diploid og triploid atlantisk torsk. Verdiene er oppgitt som gjennomsnitt med 95% konfidensintervall. Diploid: $n=50$, triploid: $n=51$.

	Diploid	Triploid
Klorid i plasma ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	156 (154-157)	156 (155-158)
Osmolalitet i hvit muskel (mOsm)	367 (361-373)	360 (354-366)

3.5. Glukose, glykogen og laktat i hvit muskel og lever

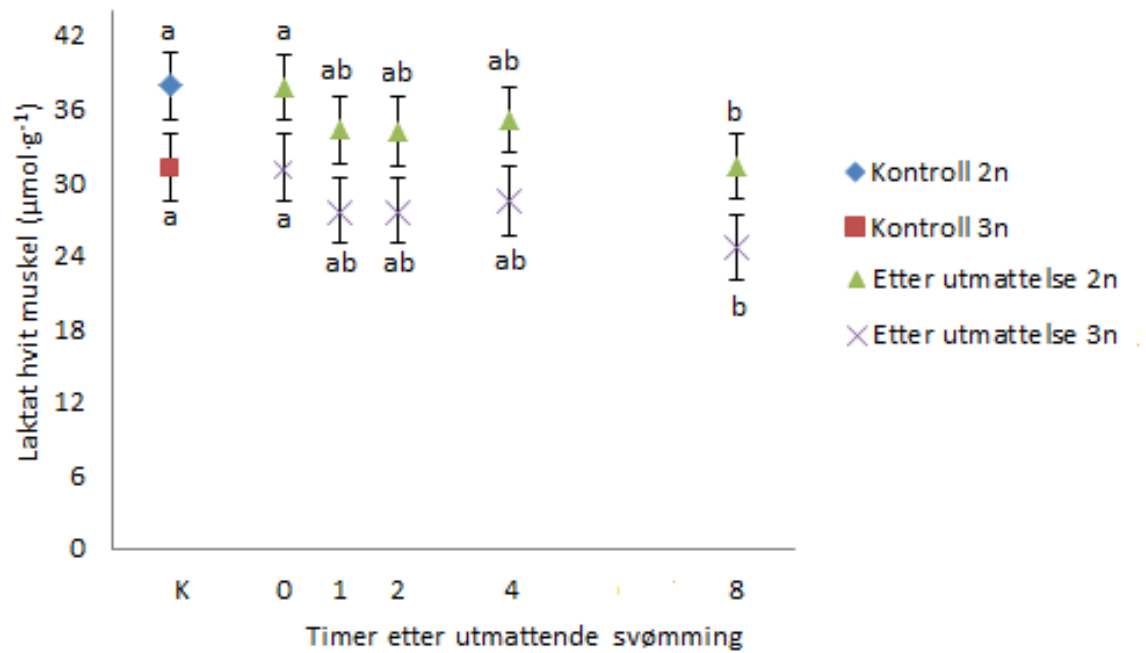
Vi fant ingen signifikant forskjell mellom fisken før og etter utmattende svømming for verken glukose- eller glykogennivået i muskel (Tabell 8). Vi fant derimot en forskjell i glukose og glykogen mellom diploide og triploide individer (Tabell 7). Diploid fisk hadde signifikant høyere glukose- og glykogennivå i muskel sammenlignet med triploid fisk. Vekt hadde signifikant effekt på glukosenivå i muskel ($p<0,001$).

Vi fant heller ingen signifikant forskjell mellom fisken før og etter utmattende svømming på verken glukose- eller glykogennivået i lever, men vi fant en forskjell i glykogennivå i lever mellom diploide og triploide individer (Tabell 8). Også her hadde diploide signifikant høyere nivå enn triploide (Tabell 7). Det var kun kondisjonsfaktor som hadde signifikant effekt på glukosenivå i lever ($p<0,01$). For laktatnivået i lever fant vi ingen signifikant effekt av restitusjonstid, men ploiditet hadde signifikant effekt på nivået (Tabell 8). Triploid fisk hadde et gjennomsnittlig laktatnivå i lever som var signifikant høyere sammenlignet med diploid fisk.

Tabell 7. Glukose og glykogen i hvit muskel og lever, og laktat i lever, hos diploid og triploid atlantisk torsk. Verdiene er oppgitt som gjennomsnitt med 95% konfidensintervall. Benevningen er $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$. Muskel diploide: n=50, muskel triploide: n=51, lever diploide: n=50, lever triploide: n=51. Verdier innenfor hvert vev som har forskjellig bokstav er signifikant forskjellig.

Parameter	Muskel		Lever	
	Diploid	Triploid	Diploid	Triploid
Glukose	1,8 (1,7-1,9) ^{a)}	1,3 (1,2-1,4) ^{b)}	2,4 (2,1-2,6)	2,1 (1,8-2,3)
Glykogen	2,0 (1,8-2,2) ^{a)}	1,4 (1,2-1,6) ^{b)}	30,0 (26,0-34,0) ^{a)}	15,7 (11,7-19,6) ^{b)}
Laktat	<i>Figur 8</i>	<i>Figur 8</i>	2,09 (1,88-2,30) ^{a)}	2,64 (2,43-2,86) ^{b)}

Både ploiditet ($p < 0,001$) og restitusjonstid ($p < 0,01$) hadde signifikant effekt på laktatnivået i muskel. Forskjellen mellom diploide og triploide, og mellom fisken før og etter utmattende svømming, kommer frem i Figur 8. Diploide hadde signifikant høyere laktatnivå i muskel enn triploide, mens utviklingen over tid var lik (ingen interaksjonsaffekt mellom restitusjon og ploiditet). Når det gjelder restitusjonstid hadde individene som fikk restituere seg i 8 timer etter svømmeforsøket signifikant lavere laktatnivå i muskel sammenlignet med kontrollgruppen og 0-timersgruppen ($p < 0,01$). De resterende restitusjonsgruppene var ikke signifikant forskjellig fra kontrollgruppen, men en kan se av Figur 8 at laktatnivået i muskel rett etter utmattende svømming er høyest, og at det synker ettersom restitusjonstiden øker. Både lengde, vekt og kondisjonsfaktor hadde signifikant effekt på laktat i hvit muskel ($p < 0,05$).



Figur 8. Laktatnivå i hvit muskel hos diploid og triploid atlantisk torsk under restituering etter utmattende svømming. K representerer kontrollfisk som ikke har vært utsatt for svømming. Hvert datapunkt er oppgitt som gjennomsnitt med 95% konfidensintervall. Kontroll: n=20, 0-timersgruppen: n=20, 1-timersgruppen: n=20, 2-timersgruppen: n=20, 4-timersgruppen, n=20, 8-timersgruppen: n=21. Restitusjonstider uten samme bokstav(er) er signifikant forskjellig.

Oversikt over p-verdier og signifikans

Tabell 8 viser en oversikt over p-verdier der ploiditet og restitusjonstid hadde signifikant effekt, og hvilke parametere de hadde effekt på.

Tabell 8. P-verdier til de forskjellige parameterne hvor ploiditet og/eller restitusjonstid hadde signifikant effekt hos diploid og triploid atlantisk torsk. n=101, is=ingen signifikans.

Parameter	P-verdi	
	Ploiditet	Restitusjonstid
<i>Blod</i>		
Laktat	is	0,003
Hematokrit	is	2,80E-11
Glukose i plasma	is	0,004
<i>Ionebalanse</i>		
Osmolalitet i hvit muskel	is	is
Osmolalitet i plasma	is	0,02
Klorid i plasma	is	is
<i>Hvit muskel</i>		
Laktat	3,37E-09	0,004
Glukose	1,79E-08	is
Glykogen	3,73E-05	is
<i>Lever</i>		
Laktat	0,0003	is
Glukose	is	is
Glykogen	2,10E-06	is

4. DISKUSJON

4.1. Kroppsstørrelse

Diploid atlantisk torsk var både lengre og tyngre enn triploid atlantisk torsk (Tabell 5). Fisken brukt i forsøkene klekket omtrent samtidig og gikk sammen på sjøanlegget i forkant av forsøkene. Forskjellig miljø kan dermed ikke brukes som årsaksforklaring til størrelsesforskjellen mellom de diploide og triploide individene.

Det er rapportert at triploid laksefisk viser mindre aggressivitet enn diploid laksefisk under fôring når de oppdrettes sammen (Garner m.fl., 2008). Hvorvidt dette er tilfelle hos torskefisk er imidlertid uvisst. Likevel kan dette momentet trekkes frem som en mulig årsak til lavere størrelse hos de triploide individene, fordi mindre aggressivitet kan medføre lavere fôrinntak, og dermed lavere vekst. Det må riktignok nevnes at Garner m.fl. (2008) ikke fant noen forskjell i vekst eller fôrinntak mellom diploid og triploid stillehavslaks til tross for mindre aggressivitet hos de triploide individene. Dermed kan ikke redusert aggressivitet ene og alene brukes som forklaring på redusert vekst hos triploid torsk.

4.2. Svømmekapasitet

Målet med svømmetesten i vårt forsøk var at fisken skulle oppnå utmattende, anaerob spurtsvømming (U_{burst}) (se seksjon 1.7: anaerob svømmekapasitet). I vår studie hadde diploide og triploide individer en gjennomsnittlig utmattelsessvømmehastighet på henholdsvis 98 (KI: 94-103) og 95 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ (KI: 91-99). Diploid atlantisk torsk har vist en gjennomsnittlig svømmehastighet på 103 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ (SEM = 2,28), med minimum og maksimum svømmehastighet på henholdsvis 90 og 123 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ under U_{burst} -test hvor musklene jobbet anaerobt (Reidy m.fl., 2000). Utmattelsessvømmehastigheten i vår studie er nokså lik Reidy m.fl. (2000) sine resultater.

Vi fant ingen signifikant forskjell i gjennomsnittlig utmattelsessvømmehastighet mellom diploid og triploid atlantisk torsk. Dette kan tilsa at diploide og triploide hadde lik svømmekapasitet under utmattende, intensiv svømming hvor musklene jobbet anaerobt. Dette funnet stemmer overens med Hyndman m.fl. (2003b) sine resultater på diploid og triploid bekkerøye. De fant ingen forskjell i glukose og laktat i plasma, glykogen i muskel eller kreatinfosfat mellom diploid og triploid bekkerøye, verken før eller etter utmattende anaerob svømming (Hyndman m.fl., 2003b). Dermed konkluderte

de med at det ikke eksisterte forskjeller mellom diploid og triploid bekkerøye med hensyn til utmattende anaerob svømmekapasitet og påfølgende restitusjonsevne (Hyndman m.fl., 2003b).

Våre resultater tilsier at det ikke er forskjell i anaerob svømmekapasitet mellom diploid og triploid torsk. Dette stemmer også godt overens med andre studier gjort på aerob svømmekapasitet (U_{crit}) (Parson, 1993 referert i Stillwell & Benfey 1997, 652; Small & Randall, 1989; Stillwell & Benfey, 1997; Lijalad & Powell, 2009). Heller ikke her har det blitt funnet forskjeller mellom diploide og triploide individer.

Faktorer som kroppsstørrelse, temperatur, ernæring og vannkvalitet kan påvirke fiskens svømmeevne og restitusjon etter utmattende svømming (Kieffer, 2000; Hyndman m.fl., 2003b). I vår studie observerte vi dette, hvor både lengde og kondisjonsfaktor hadde effekt på svømmehastigheten.

4.3. Fysiologiske likheter og forskjeller mellom diploid og triploid atlantisk torsk

I likhet med tidligere studier (Benfey, 1999), var det ingen signifikant forskjell i hematokritnivået mellom diploid og triploid fisk i vår studie. Vi fant heller ingen signifikant forskjell i glukose i plasma mellom diploide og triploide. Dette er i samsvar med Hyndman m.fl. (2003b) sine resultater på diploid og triploid bekkerøye og Peruzzi m.fl. (2005) sine resultater på diploid og triploid havabbor. Heller ikke de fant noen signifikant forskjell i glukose i plasma mellom diploide og triploide individer.

Vi fant ingen signifikant forskjell i osmolalitet i plasma mellom diploid og triploid atlantisk torsk. Dette er delvis i samsvar med Hyndman m.fl. (2003b) sine resultater. De observerte ingen signifikant forskjell i osmolalitet i plasma mellom diploid og triploid bekkerøye før utmattende svømming, men de observerte forskjeller under restituering (Hyndman m.fl., 2003b). I vår studie hadde kontrollgruppen en verdi på 343 mOsm i plasma (når diploide og triploide individer er slått sammen). Dette er en verdi noe høyere enn Hyndman m.fl. (2003b) sine verdier på omtrent 300 mOsm (både for diploid og triploid bekkerøye). Dette er en forventet forskjell da Hyndman m.fl. (2003b) sin studie er gjort på bekkerøye som er en ferskvannsort. For diploid atlantisk torsk er rapportert osmolalitetsnivå i plasma omtrent 340 mOsm (Olsen m.fl., 2008), en verdi nokså lik vår.

For klorid i plasma ($2n/3n$: $156 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) og osmolalitet i hvit muskel ($2n$: 367 mOsm , $3n$: 360 mOsm) fant vi heller ingen signifikant forskjell mellom diploide og triploide individer. Rapportert kloridnivå i plasma hos diploid atlantisk torsk er $146 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Olsen m.fl., 2008) og $166 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Staurnes m.fl., 1994).

I vår studie hadde diploid atlantisk torsk signifikant høyere nivå av glukose og glykogen i hvit muskel enn triploide. Dette kan indikere en generelt dårligere energistatus i hvit muskel hos triploide enn hos diploide, men dette kan ikke slås fast med sikkerhet. For eksempel kan forskjell i adferd, og da fôrinntak mellom diploid og triploid fisk, være en potensiell årsak til forskjell i energistatus (se seksjon 1.6: adferd). Hyndman m.fl. (2003b) fant ingen signifikant forskjell i glykogenkonsentrasjonen i hvit muskel mellom diploid og triploid bekkerøye før utmattende svømming.

Diploid atlantisk torsk hadde jevnt over høyere nivå av laktat i hvit muskel under restituering (inklusive kontrollgruppen) sammenlignet med triploid atlantisk torsk. En mulig forklaring kan være at de diploide individene også hadde høyere nivå av glukose og glykogen i muskel. Siden glukose og glykogen omdannes til laktat under utmattende svømming, vil dermed de diploide individene også kunne oppnå høyere konsentrasjon av laktat i hvit muskel. Dette er en forskjell som er uavhengig av svømmingen. Hyndman m.fl. (2003b) fant ingen signifikant forskjell i laktat i hvit muskel mellom diploid og triploid bekkerøye før utmattende svømming. En mulig årsak til at Hyndman m.fl. (2003b) sine resultater ikke er i samsvar med våre kan være artsspesifikke forskjeller mellom bekkerøye og atlantisk torsk.

De diploide individene hadde signifikant høyere nivå av glykogen i lever. Triploide individer produserte signifikant mer laktat i lever enn diploide. Denne forskjellen er interessant, men årsaken(e) er uviss.

4.4. Restituering etter utmattende, anaerob svømming

Hematokrit hos diploid og triploid atlantisk torsk forandret seg ikke under svømming eller fram til 4 timer restitusjon (23-28%), men etter 8 timer (19%) var derimot hematokrit signifikant lavere sammenlignet med kontrollfisken (25%). Rapportert hematokritnivå hos diploid atlantisk torsk er omtrent 21-22% (Staurnes m.fl., 1994; Olsen m.fl., 2008), et nivå noe lavere enn vårt kontrollnivå.

For osmolalitet i plasma fant vi ingen signifikant forskjell mellom kontrollgruppen og restitusjonsgruppene, men 0-, 1-, og 4-timersgruppen (henholdsvis 352, 349 og 350 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) hadde signifikant høyere nivå enn 8-timersgruppen (341 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). Utslaget var riktignok ikke spesielt stort, noe som kan tyde på at ioneubalansen observert i plasma etter svømming ikke var så kraftig at det påvirket osmolalitetsnivået i muskel (vi fant ingen signifikant forskjell i osmolalitet i muskel mellom fisken før og etter utmattende svømming). Hyndman m.fl. (2003b) fant signifikant forskjell i osmolalitet i plasma hos diploid og triploid bekkerøye mellom fisken før og etter utmattende svømming, hvor fisken rett etter svømming hadde signifikant høyere nivå (cirka 325 mOsm) enn fisken før svømming (cirka 300 mOsm) (både for diploide og triploide). Det samme gjaldt for fisken som hadde restituert seg i 2 timer, men kun for diploide (Hyndman m.fl., 2003b). Etter 4 timer var osmolalitet i plasma hos diploide tilbake til kontrollnivå igjen (Hyndman m.fl., 2003b).

Glukose i plasma nådde en topp etter 2 timer (6,8 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) hvor nivået da var signifikant høyere enn kontrollfiskens (4,7 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) og det i 0-gruppen (4,2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). Etter 8 timer var glukosenivået i plasma tilbake til normalverdier. Hyndman m.fl. (2003b) fant ingen forskjell i glukose i plasma før og etter utmattende svømming hos diploid (4,9 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) og triploid (4,0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) bekkerøye. Rapportert glukosenivå i plasma hos atlantisk torsk er rundt 4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Staurnes m.fl., 1994; Olsen m.fl., 2008). Glukosenivå i plasma hos atlantisk torsk 4 timer etter stress er rapportert til rundt 6,5-7 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Olsen m.fl., 2008).

I vår studie hadde diploid og triploid atlantisk torsk et glykogennivå i hvit muskel på henholdsvis 2,0 og 1,4 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$. Vi fant ingen signifikant forskjell i glykogennivå i hvit muskel mellom fisken før og etter utmattende svømming i motsetning til tidligere studier hvor glykogenkonsentrasjonen sank etter utmattende svømming (Hyndman m.fl., 2003b; Dobson & Hochachka, 1987; Schulte m.fl., 1992). Hos diploid regnbueørret sank glykogennivået i hvit muskel fra 33,9 til 10,5 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ etter utmattende svømming (Schulte m.fl., 1992). Hos diploid ørret sankt glykogennivået fra 9,9 til 0,62 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (Dobson & Hochachka, 1987). Hos diploid og triploid bekkerøye sank glykogennivået etter utmattende svømming i hvit muskel fra henholdsvis 28,3 og 24,7 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ til omtrent 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (Hyndman m.fl., 2003b). Nevnte verdier gjelder riktignok for laksefisk. Rapportert glykogennivå i hvit muskel hos diploid atlantisk torsk ligger på 0,8

$\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ før utmattende svømming og $0,08 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ etter 30 minutter med utmattende svømming (Beamish, 1968).

En mulig forklaring til at vi ikke så noen signifikant reduksjon i glykogennivå etter utmattende svømming kan være at fisken i vår studie ikke ble totalt utmattet. Muligens sluttet den å svømme fordi den var lite villig til å svømme, eller av andre årsaker, fremfor at den sluttet å svømme grunnet total utmattelse. Dobson og Hochachka (1987) gjennomførte en individuell svømmetest hvor vannhastigheten var på $90 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ frem til fisken ikke kunne svømme 1-2 kroppslengde/sekund lengre. Da ble vannhastigheten redusert og fisken fikk en pause på noen få minutter før vannhastigheten igjen økte til $90 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$. Dette ble gjentatt helt til fisken var totalt utmattet, noe som ble definert av at fisken ikke lenger kunne svømme 1-2 KL/s. Gjennomsnittstiden før total utmattelse var nådd var 45 minutter. Hvis man sammenligner denne svømmeprotokollen med vår, kan det spekuleres i om Dobson og Hochachka (1987) sin protokoll oppnådde høyere utmattelse og at glykogenlagrene derved tømtes mer.

I følge tidligere studier (Beamish, 1968; Dobson & Hockachka, 1987; Schulte m.fl., 1992; Milligan, 1996; Hyndman m.fl., 2003b) kunne vi forventet en økning i laktatnivå i hvit muskel etter utmattende svømming, noe vi ikke gjorde. Rett etter utmattende svømming var laktatnivået i hvit muskel ikke forskjellig fra kontrollgruppen. Hos diploid regnbueørret steg laktatnivået i hvit muskel fra $3,9$ til $41,7 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ etter utmattende svømming (Schulte m.fl., 1992). Hos diploid og triploid bekkerøye steg laktat i hvit muskel fra omtrent 3 til omtrent $30 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ etter utmattende svømming. I vår studie var det kun fisken i 8-timersgruppen ($2n$: $31,4 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$, $3n$: $24,7 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$) som hadde signifikant lavere laktatnivå i muskel enn kontrollfisken ($2n$: $37,9 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$, $3n$: $31,2 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$). Rapportert laktatnivå i hvit muskel hos diploid atlantisk torsk ligger på $0,7 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ før utmattende svømming og $2,1 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ etter 30 minutter med utmattende svømming (Beamish, 1968). Laktatnivå i hvit muskel før svømming i vår studie var relativt høyt sammenlignet med andre studier (Beamish, 1968; Schulte m.fl., 1992; Hyndman m.fl., 2003b).

At vi ikke observerte forskjell i laktatnivå i hvit muskel mellom fisken før og etter utmattende svømming, kan ha sammenheng med at vi heller ikke observerte noen forskjell i glukose- og glykogennivået mellom fisken før og etter utmattende svømming. Samtidig med en reduksjon av glukose i muskel under utmattende svømming,

akkumuleres laktat og H^+ (Milligan, 1996). Når det ikke er nevneverdig energi (glukose/glykogen) til stede i utgangspunktet, vil det kanskje ikke produseres så mye laktat heller. Det kan virke som at torsk har lavere glukose-/glykogenutgangspunkt enn laksefisk, og at det gjenspeiles i lav laktatkonsentrasjon i muskel etter endt utmattende svømming.

Det kan eksistere en rekke årsaker til at våre og Hyndman m.fl. (2003b) sine resultater var ulike med hensyn til forskjeller i diverse parametere før og etter utmattende svømming hos diploid og triploid fisk. Artsforskjeller mellom bekkerøye og torsk kan naturligvis være en medvirkende årsak, ettersom bekkerøye er en ferskvannsort og torsk er en saltvannsort. Laksefisk har også en tendens til å ta seg mer ut i svømmetester enn mindre aktiv fisk, og det kan bidra til forskjellen mellom Hyndman m.fl. (2003b) og vårt forsøk. Forskjeller i forsøksdesign mellom vårt og Hyndman m.fl. (2003b) sin studie kan også ha påvirket resultatene. Hyndman m.fl. (2003b) gjennomførte jage-test på individuell fisk over 5 minutter, mens vi gjennomførte testen i svømmetunnel over 11 minutter.

I motsetning til en annen studie gjort på diploid regnbueørret, hvor leverglykogen sank med 20% etter utmattende svømming (Dobson & Hochachka, 1987), fant vi ingen signifikant forskjell i glykogenkonsentrasjonen i lever før og etter utmattende svømming. Dette kan være knyttet opp mot samme årsaker som ble diskutert for glukose og glykogen i hvit muskel.

Noe av syren og laktatet som produseres i hvit muskel under anaerob muskelaktivitet entrer blodet slik laktatnivået øker og dets pH synker (Kieffer, 2000). Vi observerte signifikant høyere laktatnivå i blodet hos 1-timersgruppen ($1,75 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) sammenlignet med kontrollgruppen ($0,6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). Etter 2 timer restituering var laktat i blodet tilbake til normalnivå igjen, og etter 8 timer ($0,28 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) var nivået signifikant lavere enn både kontrollgruppen, 0-, 1- og 2-timersgruppen. Rapportert laktatnivå i plasma hos diploid regnbueørret er $0,69 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ før utmattende svømming og $13,1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ rett etter (Schulte m.fl., 1992), dette er en signifikant forskjell mellom fisken før og etter utmattende svømming. Normalnivå av laktat i plasma hos diploid regnbueørret gjenopprettes først etter 24 timer restituering, da med et laktatnivå på $1,1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Schulte m.fl., 1992). Schulte m.fl. (1992) sine resultater passer våre laktatverdier i plasma noenlunde. Den klareste forskjellen ligger rett etter svømming hvor Schulte m.fl. (1992) har relativt høyere verdier enn våre.

De hvite musklenes energilagre (glykogen, kreatinfosfat og ATP) blir brukt under anaerob metabolisme når de hvite musklene jobber anaerobt (Dobson & Hochachka, 1987). (Se seksjon 1.7: anaerob svømmekapasitet). I vår studie undersøkte vi kun nivået av glykogen under og etter anaerob utmattende svømming. Om det er forskjell i nivåene av kreatinfosfat og ATP mellom diploid og triploid atlantisk torsk under anaerob metabolisme er uvisst. For å bedre kartlegge forskjeller/likheter mellom diploid og triploid torsk sitt nivå av energikilder under og etter utmattende svømming hvor musklene jobber anaerob kan det være interessant også å se på kreatinfosfat- og ATP-nivåene. Dermed kan man være bedre rustet til å dra en konklusjon hvorvidt det eksisterer forskjell mellom diploid og triploid atlantisk torsk sin anaerobe svømmekapasitet og restitusjonsevne i etterkant.

4.5. Oppsummering

I vår studie hadde diploid atlantisk torsk høyere nivå av glukose og glykogen i hvit muskel, samt høyere nivå av glykogen i lever, sammenlignet med triploid atlantisk torsk. Dette kan i teorien gjøre diploid atlantisk torsk til bedre svømmere enn triploid atlantisk torsk. En slik sammenheng ble imidlertid ikke påvist i denne studien. Videre fant vi ingen effekt av restitusjonstid på muskelglykogen/glukose hos diploide, noe som burde vært tilfelle om de hadde hatt bedre evne til å utnytte den tilgjengelige energien. Vi fant heller ingen signifikant forskjell i restitusjonsparameterne mellom diploid og triploid atlantisk torsk. Dette kan bety at påfølgende restitusjon etter utmattende, anaerob svømming ikke er forskjellig mellom diploid og triploid atlantisk torsk.

Vi kan konkludere med at vi ikke fant forskjell i anaerob svømmekapasitet eller påfølgende restituering mellom diploid og triploid torsk. Derimot var det forskjeller i glukose, glykogen og laktatnivå i muskel og lever hos diploid og triploid atlantisk torsk. Disse resultatene tilsier at triploid atlantisk torsk har samme forutsetning som diploid atlantisk torsk med hensyn til utmattende, anaerob spurtsvømming og påfølgende restituering.

For å bedre kartlegge diploid og triploid atlantisk torsk sin anaerobe svømmekapasitet og påfølgende restituering kan det være interessant i framtidige forsøk å se på kreatinfosfat- og ATP-nivåene under og etter utmattende svømming.

5. REFERANSELISTE

- Aldridge, F. J., Marston, R.Q., Shireman, J.V. (1990). Induced triploids and tetraploids in bighead carp, *Hypophthalmichthys nobilis*, verified by multi-embryo cytofluorometric analysis. *Aquaculture* **87**, 121–131.
- Altimiras, J., Axelsson, M., Claireaux, G., Lefrançois, C., Mercier, C., Farrell, A.P. (2002). Cardiorespiratory status of triploid brown trout during swimming at two acclimation temperatures. *Journal of Fish Biology* **60**, 102-116.
- Andersen, H. (2010). Satser på oppdrettstorsk. Dagens Næringsliv 31.10.2010.
<http://www.dn.no/nyheter/naringsliv/2010/10/31/satser-pa-oppdrettstorsk>
Besøkt 28.1.2015.
- Arai, K., Matsubara, K., Suzuki, R. (1993). Production of polyploids and viable gynogens using spontaneously occurring tetraploid loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. *Aquaculture* **117**, 227-235.
- Bain, B.J., Gupta, R. (2003). *A-Z of Haematology* (Bain, B.J., Gupta, R., eds.). Blackwell Publishing, Malden, Massachusetts, USA.
- Beamish, F.W.H. (1968). Glycogen and lactic acid concentrations in Atlantic Cod (*Gadus morhua*) in relation to exercise. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **25(5)**, 837-851.
- Benfey, T.J. (1999). The physiology and behavior of triploid fishes. *Reviews in Fisheries Science* **7(1)**, 39-67.
- Benfey, T.J. (2011) Physiology of triploid fish. In: *Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment* (Farrell, A.P., (ed.). **Volume 3**, pp. 2009-2015. Academic Press, San Diego, USA.
- Benfey, T.J. (2015). Effectiveness of triploidy as a management tool for reproductive containment of farmed fish: Atlantic salmon (*Salmo salar*) as a case study. *Reviews in Aquaculture* **7**, 1-19.
- Benfey T.J., Sutterlin, A.M. (1984). Triploidy induced by heat shock and hydrostatic pressure in landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* **36**, 359-367.
- Benfey, T.J., Biron, M. (2000). Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture* **184**, 167-176.
- Biron, M., Benfey, T.J. (1994). Cortisol, glucose and hematocrit changes during acute

- stress, cohort sampling, and the diel cycle in diploid and triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis* Mitchell). *Fish Physiology and Biochemistry* **13(2)**, 153-160.
- Brander, K., 2005. Spawning and life history information for North Atlantic cod stocks. *International Council for the Exploration of the Sea* **274**, 1-152.
- Chourrout, D., Chevassus, B., Krieg, F., Happe, A., Burger, G., Renard, P. (1986). Production of second generation triploid and tetraploid rainbow trout by mating tetraploid males and diploid females – Potential of tetraploid fish. *Theoretical and Applied Genetics* **72**, 193-206.
- Croghan, C.W., Egeghy, P.P. (2003). Methods of dealing with values below the limit of detection using SAS. Paper presented at the Southeastern SAS Group, St. Petersburg, FL, U.S. Environmental protection agency, 1-5.
- Dobson, G.P., Hochachka, P.W. (1987). Role of glycolysis in adenylate depletion and repletion during work and recovery in teleost white muscle. *The Journal of Experimental Biology* **129**, 125-140.
- Feindel, N.J., Benfey, T.J., Trippel, E.A. (2011). Gonadal development of triploid Atlantic cod *Gadus morhua*. *Journal of Fish Biology* **78**, 1900-1912.
- Fiskeridirektoratet. (2007). Statistikk for akvakultur – Salg 2007-2013. Fiskeridirektoratet, 30.1.07. <http://www.fiskeridir.no/statistikk/akvakultur/statistikk-for-akvakultur/andre-marine-fiskearter> Besøkt 11.11.2014.
- Fiskeridirektoratet. (2008). Statistikk fra fiskeri – Norges fiskerier. Fiskeridirektoratet, 4.1.2008. <http://www.fiskeridir.no/statistikk/fiskeri/fangst-og-kvoter/norges-fiskerier> Besøkt 11.11.2014.
- Fraser, T.W.K., Fjellidal, P.G., Hansen, T., Mayer, I. (2012). Welfare considerations of triploid fish. *Reviews in Fisheries Science* **20(4)**, 192-211.
- Fraser, T.W.K., Hansen, T., Skjæraasen, J.E., Mayer, I., Sambraus, F., Fjellidal, P.G. (2013). The effect of triploidy on the culture performance, deformity prevalence, and heart morphology in Atlantic salmon. *Aquaculture* **416-417**, 255-264.
- Garner, S.R., Madison, B.N., Bernier, N.J., Neff, B.D. (2008). Juvenile growth and aggression in diploid and triploid Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). *Journal of Fish Biology* **73**, 169-185.
- Geffen, A.J., Fox, C.J., Nash, R.D.M. (2006). Temperature-dependent development rates of cod *Gadus morhua* eggs. *Journal of Fish Biology* **69**, 1060-1080.

- Godø, O.R., Moksness, E. (1987). Growth and maturation of Norwegian coastal cod and Northeast Arctic cod under different conditions. *Fisheries Research* **5**, 235-242.
- Graham, M.S., Fletcher, G.L., Benfey, T.J. (1985). Effect of triploidy on blood oxygen content of Atlantic salmon. *Aquaculture* **50**, 133-139.
- Hall, T.E., Smith, P., Johnston, I.A. (2004). Stages of embryonic development in the Atlantic cod *Gadus morhua*. *Journal of Morphology* **259**, 255-270.
- Hansen, T., Karlsen, Ø., Taranger, G.L., Hemre, G.I., Holm, J.C., Kjesbu, O.S. (2001). Growth, gonadal development and spawning time of Atlantic cod (*Gadus morhua*) reared under different photoperiods. *Aquaculture* **203**, 51-67.
- Hussain, M.G., Chatterji, A., McAndrew, B.J., Johnstone, R. (1991). Triploidy induction in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. using pressure, heat and cold shocks. *Theoretical and Applied Genetics* **81**, 6-12.
- Hyndman, C.A., Kieffer, J.D., Benfey, T.J. (2003a). Physiology and survival of triploid brook trout following exhaustive exercise in warm water. *Aquaculture* **221**, 629-643.
- Hyndman, C.A., Kieffer, J.D., Benfey, T.J. (2003b). The physiological response of diploid and triploid brook trout to exhaustive exercise. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* **134**, 167-179.
- Johnstone, R., Knott, R.M., MacDonald, A.G., Walsingham, M.V. (1989). Triploidy induction in recently fertilized Atlantic Salmon ova using anaesthetics. *Aquaculture* **78**, 229-236.
- Jones, D.R. (1971). The effect of hypoxia and anaemia on the swimming performance of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *The Journal of Experimental Biology* **55**, 541-551.
- Jørstad, K.E., van der Meeren, T., Paulsen, O.I., Thomsen, T., Thorsen, A., Svåsand, T. (2008). "Escapes" of eggs from farmed cod spawning in net pens: recruitment to wild stocks. *Reviews in Fisheries Science* **16(1-3)**, 285-295.
- Karlsen, Ø., Nordberg, B., Kjesbu, O.S., Taranger, G.L. (2006). Effects of photoperiod and exercise on growth, liver size, and age at puberty in farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *ICES Journal of Marine Science* **63**, 355-364.
- Kieffer, J.D. (2000). Review: Limits to exhaustive exercise in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* **126**, 161-179.

- Kjesbu, O.S. (1989). The spawning activity of cod, *Gadus morhua* L. *Journal of Fishery Biology* **34**, 195-206.
- Konietschke, F. (2012). nparcomp: Perform multiple comparisons and compute simultaneous confidence intervals for the nonparametric relative contrast effects. R package version 2.0.
<http://www2.uaem.mx/r-mirror/web/packages/nparcomp/nparcomp.pdf>
- Leary, R.F., Allendorf, F.W., Knudsen, K.L., Thorgaard, G.H. (1985). Heterozygosity and developmental stability in gynogenetic diploid and triploid rainbow trout. *The Genetical Society of Great Britain* **54**, 219-225.
- Leclercq, E., Taylor, J.F., Fison, D., Fjellidal, P.G., Diez-Padrisa, M., Hansen, T., Migaud, H. (2011). Comparative seawater performance and deformity prevalence in out-of-season diploid and triploid Atlantic salmon (*Salmo salar*) post-smolts. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* **158**, 116-125.
- Lenth, R.V. (2013). lsmeans: Least-squares means. R package version 1.10-4.
<http://cran.r-project.org/package=lsmeans>
- Lijalad, M., Powell, M.D. (2009). Effects of lower jaw deformity on swimming performance and recovery from exhaustive exercise in triploid and diploid Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Aquaculture* **290**, 145-154.
- Linhart, O., Flajšhans, M., Kvasnička, P. (1991). Induced triploidy in the common carp (*Cyprinus carpio* L.): a comparison of two methods. *Aquatic Living Resources* **4**, 139-145.
- Lou, Y.D., Purdom, C.E. (1984). Polyploidy induced by hydrostatic pressure in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology* **25**, 345-351.
- Malison, J.A., Procarione, L.S., Held, J.A., Terrence, B.K., Amundson, C.H. (1993). The influence of triploidy and heat and hydrostatic pressure shocks on the growth and reproductive development of juvenile yellow perch (*Perca flavescens*). *Aquaculture* **116**, 121-133.
- Maxime, V. (2008). The physiology of triploid fish: current knowledge and comparison with diploid fish. *Fish and Fisheries* **9**, 67-78.
- Milligan, C.L. (1996). Metabolic recovery from exhaustive exercise in rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology* **113A(1)**, 51-60.
- Moen, F.E., Svensen, E. (2008). Dyreliv i havet – Nordeuropeisk marin fauna. Kom forlag, 5. utgave.

- Murua, H., Saborido-Rey, F. (2003). Female reproductive strategies of marine fish species of the North Atlantic. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* **33**, 23-31.
- Nissling, A., Westin, L. (1991). Egg buoyancy of Baltic cod (*Gadus morhua*) and its implications for cod stock fluctuations in the Baltic. *Marine Biology* **111**, 33-35.
- O'Flynn, F.M., McGeachy, S.A., Friars, G.W., Benfey, T.J., Bailey, J.K. (1997). Comparison of cultured triploid and diploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *ICES Journal of Marine Science* **54**, 1160-1165.
- Ojolick, E.J., Cusack, R., Benfey, T.J., Kerr, S.R. (1995). Survival and growth of all-female diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at chronic high temperature. *Aquaculture* **131**, 177-187.
- O'Keefe, R.A., Benfey, T.J. (1999). Comparative growth and food consumption of diploid and triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis*) monitored by radiography. *Aquaculture* **175**, 111-120.
- Olsen, R.E., Sundell, K., Ringø, E., Myklebust, R., Hemre, G.I., Hansen, T., Karlsen, Ø. (2008). The acute stress response in fed and food deprived Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Aquaculture* **280**, 232-241.
- Oppedal, F., Taranger, G.L., Hansen, T. (2003). Growth performance and sexual maturation in diploid and triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seawater tanks exposed to continuous light or simulated natural photoperiod. *Aquaculture* **215**, 145-162.
- Opstad, I., Fjellidal, P.G., Karlsen, Ø., Thorsen, A., Hansen, T.J., Taranger, G.L. (2013). The effect of triploidization of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) on survival, growth and deformities during early life stages. *Aquaculture* **388-391**, 54-59.
- Parson, G.R. (1993). Comparison of diploid and triploid white crappies. *Transactions of the American Fisheries Society* **122(2)**, 237-243.
- Passonneu, J.V., Lauderdale, V.R. (1974). A comparison of three methods of glycogen measurements in tissues. *Analytical Biochemistry* **60(2)**, 405-412.
- Peruzzi, S., Chatain, B. (2000). Pressure and cold shock induction of meiotic gynogenesis and triploidy in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L.: relative efficiency of methods and parental variability. *Aquaculture* **189(1-2)**, 23-37.

- Peruzzi, S., Varsamos, S., Chatain, B., Fauvel, C., Menu, B., Falguière, J.C., Sévère, A., Flik, G. (2005). Haematological and physiological characteristics of diploid and triploid sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Aquaculture* **244**, 359-367.
- Peruzzi, S., Rudolfson, G., Primicerio, R., Frantzen, M., Kaurić, G. (2009). Milt characteristics of diploid and triploid Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture Research* **40**, 1160-1169.
- Peruzzi, S., Jobling, M. (2010). Farming Cod: Putting the pressure on, and turning up the heat? Fiskerikandidaten 2010, Universitet i Tromsø.
<http://munin.uit.no/bitstream/handle/10037/2665/article.pdf?sequence=1&iAIlowed=y> Besøkt 17.3.2015.
- Piferrer, F., Beaumont, A., Falguière, J.C., Flajšhans, M., Haffray, P., Colombo, L. (2009). Polyploid fish and shellfish: Production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. *Aquaculture* **293**, 125-156.
- Refstie, T., Vassvik, V., Gjedrem, T. (1977). Induction of polyploidy in salmonids by cytochalasin B. *Aquaculture* **10**, 65-74.
- Reidy, S.P., Kerr, S.R., Nelson, J.A. (2000). Aerobic and anaerobic swimming performance of individual Atlantic cod. *The Journal of Experimental Biology* **203**, 347-357.
- Sadler, J., Pankhurst, N.W., Pankhurst, P.M., King, H. (2000). Physiological stress responses to confinement in diploid and triploid Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology* **56**, 506-518.
- Sadler, J., Pankhurst, P.M., King, H.R. (2001). High prevalence of skeletal deformity and reduced gill surface area in triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* **198** 369-386.
- Schulte, P.M., Moyes, C.D., Hochachka, P.W. (1992). Integrating metabolic pathways in post-exercise recovery of white muscle. *The Journal of Experimental Biology* **166**, 181-195.
- Serra-Llinares, R.M., Nilsen, R., Uglem, I., Arechavala-Lopez, P., Bjørn, P.A., Noble, C. (2013). Post-escape dispersal of juvenile Atlantic cod *Gadus morhua* from Norwegian fish farms and their potential for recapture. *Aquaculture Environment Interactions* **3**, 107-116.
- Sezaki, K., Watabe, S., Tsukamoto, K., Hashimoto, K. (1991). Effects of increase in ploidy status on respiratory function of ginbuna, *Carassius auratus langsdorfi*

- (Cyprinidae). *Comparative Biochemistry and Physiology* **99A**, 123-127.
- Small, S.A., Randall, D.J. (1989). Effects of triploidy on the swimming performance of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **46**, 243-245.
- Smith, L.T., Lemoine, H.L. (1979). Colchicine-induced polyploidy in brook trout. *The Progressive Fish-Culturist* **41(2)**, 86-88.
- Staurnes, M., Sigholt, T., Pedersen, H.P., Rustad, T. (1994). Physiological effects of simulated high-density transport of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture* **119**, 381-391.
- Stillwell, E.J., Benfey, T.J. (1997). The critical swimming velocity of diploid and triploid brook trout. *Journal of Fish Biology* **51**, 650-653.
- Storset, A. (uten år). Produksjon av steril triploid laks – en tilstrekkelig moden teknologi for «grønne konsesjoner». Foredrag *AquaGen*.
<http://akvarena.no/uploads/Foredrag/Workshop%20gr%C3%B8nne%20konsesjoner/Arne%20Storset,%20Aqua%20Gen,%20Produksjon%20av%20steril%20triploid%20laks.pdf> Besøkt 4.11.2014.
- Suresh, A.V., Sheehan, R.J. (1998). Muscle fibre growth dynamics in diploid and triploid rainbow trout. *Journal of Fish Biology* **52**, 570-587.
- Svåsand, T., Jørstad, K.E., Otterå, H., Kjesbu, O.S. (1996). Differences in growth performance between Arcto-Norwegian and Norwegian coastal cod reared under identical conditions. *Journal of Fish Biology* **49**, 108-119.
- Swarup, H. (1959a). Effect of triploidy on the body size, general organization and cellular structure in *Gasterosteus aculeatus* (L). *Journal of Genetics* **56 (2)**, 143-155.
- Swarup, H. (1959b). Production of triploidy in *Gasterosteus aculeatus* (L). *Journal of Genetics* **56 (2)**, 129-142.
- Taranger, G.L., Aardal, L., Hansen, T., Kjesbu, O.S. (2006). Continuous light delays sexual maturation and increases growth of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) in sea cages. *ICES Journal of Marine Science* **63**, 365-375.
- Taranger, G. L., Carrillo, M., Schulz, R. W., Fontaine, P., Zanuy, S., Felip, A., Weltzien F.A., Dufour, S., Karlsen, Ø., Norberg, B., Andersson, E., Hansen, T. (2010). Control of puberty in farmed fish. *General and Comparative Endocrinology* **165**, 483-515.
- Teskeredžić, E., Teskeredžić, Z., Donaldson, E.M., McLean, E., Solar, I. (1993).

- Triploidization of coho salmon following application of heat and electro shocks. *Aquaculture* **116**, 287-294.
- The R Core Team. (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>
- Thorgaard, G.H., Rabinovitch, P.S., Shen, M.W., Gall, G.A.E., Propp, J., Utter, F.M. (1982). Triploid rainbow trout identified by flow cytometry. *Aquaculture* **29**, 305-309.
- Tiersch, T.R., Chandler, R.W., Wachtel, S.S., Elias, S. (1989). Reference standards for flow cytometry and application in comparative studies of nuclear DNA content. *Cytometry* **10(6)**, 706-710.
- Tiwary, B.K., Ray, A.K. (2004a). Alterations in air-sac and skeleton of triploid *Heteropneustes fossilis*. *Journal of Fish Biology* **64**, 268-272.
- Tiwary, B.K., Kirubakaran, R., Ray, A.K. (2004b). The biology of triploid fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **14**, 391-402.
- Trippel, E.A., Benfey, T.J., Neil, S.R.E., Cross, N., Blanchard, M.J., Powell, F. (2008). Effects of continuous light and triploidy on growth and sexual maturation in Atlantic cod *Gadus morhua*. *Cybium* **32(2)**, 136-138.
- Varadaraj, K., Pandian, T.J. (1990). Production of all-female sterile-triploid *Oreochromis mossambicus*. *Aquaculture* **84**, 117-123.
- Verhille, C., Anttila, K., Farrell, A.P. (2013). A heart to heart on temperature: Impaired temperature tolerance of triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) due to early onset of cardiac arrhythmia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* **164**, 653-657.
- Virtanen, E., Forsman, L., Sundby, A. (1990). Triploidy decreases the aerobic swimming capacity of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comparative Biochemistry and Physiology* **96A(1)**, 117-121.
- Whitlock, M.C., Schluter, D. (2008). The Analysis of Biological Data. Roberts and Company Publishers, Greenwood Village, Colorado, USA.
- Wood, C.M. (1991). Acid-base and ion balance, metabolism, and their interactions, after exhaustive exercise in fish. *The Journal of Experimental Biology* **160**, 285-308.

Nettadresser

Nettadresse A. (2015). Biomar lanserer fôr til triploid laks. Kyst.no 27.4.2015.

http://www.kyst.no/nyhet/?article_id=112368 Besøkt 29.4.2015