

# Mattilsynet

Vannkvalitet og dyrevelferd

Trondheim 1. sep. 2004

**PROSJEKT TITTEL :**

Vannkvalitet relatert til dyrevelferd

**FIL NAVN :**

Mattilsynet/Vannkvalitet/Rapport 09.08.2004

**OPPDRAG NR.: 200440 / 11 88 67**

**OPPDRAGSGIVER :** Mattilsynet, sentralforvaltningen

**KONTAKTPERSON :** Inger Helen Stenevik

**UTARBEIDET AV :**

Trond Rosten

Åse Åtland

Torstein Kristensen

Bjørn Olav Rosseland

Bjørn Braathen

**GODKJENT AV :**

Hallvard Strømme

**KVALITETSKONTROLL :**

Ulf Winther

**DATO :** 09.08.2004

**FORTROLIG**

**STIKKORD :** Rapporten drøfter vannkvalitet i oppdrett i forhold til dyrevelferd



Fjordgt. 68

7010 TRONDHEIM

Telefon : 73 80 21 00 Telefax : 73 80 21 30

<b>INNLEDNING.....</b>	<b>5</b>
<b>BAKGRUNN FOR RAPPORTEN.....</b>	<b>6</b>
<b>MANDAT OG OMFANG .....</b>	<b>6</b>
TOLKNING AV MANDATET .....	7
<i>Vannkvaliteten vs dyrevelferd - et sentralt spørsmål.....</i>	<i>7</i>
<b>LITT OM ANGIVELSE AV EN DEL GRENSEVERDIER.....</b>	<b>9</b>
OKSYGEN .....	10
TEMPERATUR .....	15
SALINITET .....	15
GASSOVERMETNING MED NITROGEN .....	16
SURT VANN (PH) .....	16
ALUMINIUM .....	18
JERN.....	20
CO <sub>2</sub> .....	21
<i>Usikkerheter og forbedringspotensial ved måling av CO<sub>2</sub> .....</i>	<i>23</i>
AMMONIAKK / AMMONIUM .....	24
KORT OM ANDRE VANNKVALITETSPARAMETERE .....	27
<i>Hydrogensulfid (H<sub>2</sub>S, HS<sup>-</sup>, S<sup>2-</sup>).....</i>	<i>27</i>
<i>Svoveldioksid (SO<sub>2</sub>) og sulfitter .....</i>	<i>27</i>
<i>Klor .....</i>	<i>27</i>
<i>Kobolt (Co) .....</i>	<i>28</i>
<i>Nikkel (Ni).....</i>	<i>28</i>
<i>Bly (Pb).....</i>	<i>28</i>
<i>Krom (Cr).....</i>	<i>28</i>
<i>Mangan (MN).....</i>	<i>28</i>
<i>Sink (Zn).....</i>	<i>29</i>
<i>Kadmium (Cd).....</i>	<i>29</i>
<i>Kobber (Cu) .....</i>	<i>29</i>
<i>Samvirke.....</i>	<i>29</i>
OPPSUMMERING .....	30
<b>SAMMENHENG MELLOM FISKETETTHET, VANNTILFØRSEL OG VANNKVALITET .....</b>	<b>31</b>
OPPSUMMERING .....	34
<b>HVILKE PARAMETERE BØR OVERVÅKES OG PÅ HVILKEN MÅTE.....</b>	<b>35</b>
OPPSUMMERING .....	38
<b>TRANSPORT OG VANNKVALITET .....</b>	<b>39</b>
LITE PROBLEMER MED ÅPEN TRANSPORT I BRØNNBÅT .....	39
LUKKET TRANSPORT ER PROBLEMATISK .....	40
EKSEMPLER PÅ KRAV TIL TETTHET OG MAKSIMAL TRANSPORTLENGDE I LUKKET SYSTEM VED SIMULERING AV VANNKVALITET .....	42
OPPSUMMERING .....	44
<b>VANNKVALITET I MATFISKOPPDRETT.....</b>	<b>45</b>

OPPSUMMERING .....	47
<b>MER OM DE MARINE ARTENES KRAV TIL VANNKVALITET .....</b>	<b>49</b>
<i>Kveite</i> .....	49
<i>Piggvar</i> .....	51
<i>Torsk</i> .....	51
<i>Steinbit</i> .....	52
<b>PROBLEMSTILLINGER VED BRUK AV OKSYGENTILFØRSEL.....</b>	<b>54</b>
OKSYGEN I VANN .....	54
OKSYGEN OG FISK.....	54
EFFEKTER AV HYPEROKSI PÅ FORSKJELLIGE ARTER .....	56
<i>Atlantisk laks</i> .....	56
<i>Regnbueørret</i> .....	57
<i>Andre arter</i> .....	57
<i>Antioksidanter i for under hyperoksi</i> .....	57
OPPSUMMERING .....	58
<b>TØRRLEGGING AV FISK – VURDERING AV KONSEKVENSER.....</b>	<b>59</b>
<b>OM BEDØVELSE AV FISK – VURDERING AV KONSEKVENSER .....</b>	<b>59</b>
HVORFOR BEDØVE - KAN FISK FØLE SMERTE?.....	61
KLASSIFISERING AV BEDØVELSESFASENE FOR FISK.....	62
OPERASJONELLE RÅD OM BEDØVELSE OG HÅNDTERING AV FISK.....	63
KJEMISK BEDØVELSE .....	64
<i>Benzocain</i> .....	64
<i>MS-222</i> .....	65
<i>Klorbutanol</i> .....	65
<i>Clove oil</i> .....	66
<i>Metomidat</i> .....	67
OPPSUMMERING .....	67
<b>VURDERINGER AV ANBEFALINGER FOR VANNKVALITET FRA EC – STANDING COMMITTEE.....</b>	<b>69</b>
<b>KONKLUSJON – ANBEFALINGER TIL MATTILSYNET.....</b>	<b>73</b>
<b>REFERANSER .....</b>	<b>78</b>

## **Innledning**

De senere års fokusering på dyrevelferd tar ofte utgangspunkt i våre erfaringer med husdyrhold samt våre egne følelser. Vi har opplevd en fremmedgjøring fra produksjon av dyr til mat samtidig som kjæledyr i sterkere grad behandles som vanlige familiemedlemmer. Vi kjenner debatten rundt dyrevern fra pelsdyrhold og burhøns, samt i rovdyr problematikk ved husdyr på beite. Oppdrett av fisk har vokst seg frem til en industri med relativt stor mediaoppmerksomhet og det er da bare naturlig at det stilles spørsmål ved dyrevelferd i oppdretts prosessene. Det som oftest fokuseres er tetthet i merdene, vannkvalitet, transport, sykdom og deformiteter. Næringen må i større grad enn tidligere være forberedt på at det vil bli stilt kritiske spørsmål til hvordan fisken blir produsert og behandlet i alle ledd i verdikjeden.

Det er den nasjonale dyrevernslov som setter rammene for minimumskravene til behandling av produksjonsdyr. I Norge omfatter "Lov om dyrevelferd" følgende dyregruppe; "levende pattedyr, fugler, padder, frosk, salamander, krypdyr, fisk og krepserdyr". Lovens formål er å hindre at dyr kommer i fare for å lide unødige, og den nedfeller en plikt for alle til å behandle dyr på en god måte, men den skiller ikke mellom dyrenes anvendelse (kjæledyr, husdyr, fangst eller jakt). Samfunnets forventninger til hva som er god dyrevelferd påvirkes hele tiden av tilgang på ny kunnskap, dokumentasjon av problemer, medieoppslag og dyrevernorganisasjonenes aktivitet.

Oppdrettsnæringen i Norge har anslagsvis et tap på rundt 20% av den fisken som settes i sjøen. Etter fallende størrelse er tapene gruppert slik: udefinerte, sykdom, normal dødelighet, sår, alger og maneter, predatorer, kjønnsmodning, rømming, misdannelser og dødelighet etter utsett. Problemene med deformiteter i norsk havbruk har særlig vært i fokus den senere tiden. Man har antatt at deformitetene er effekter av suboptimale miljøbetingelser, ernæring, bi-effekter av vaksinerings, aggresjon mellom individer og genetiske forhold. Denne utredningen konsentrerer seg imidlertid om i problemstillinger knyttet til kvaliteten på produksjonsvannet. Det stilles ofte spørsmål til vannkvaliteten i oppdrett av fisk fra opinionen. Dette sammenfaller for øvrig med en økende interesse i oppdrettsnæringen for å optimalisere vannkvaliteten for å sikre seg bedre bedriftsøkonomisk bærekraftighet. Disse to tilnærminger er radikalt forskjellige og bygger nok på et forskjellig virkelighetsbilde og ulikt informasjonsgrunnlag.

Selve temaet vannkvalitet har i mange år lidd under liten tilgang på dokumentasjon på de faktiske nivå i oppdrett av de relevante parametre. Av denne grunn har det vært spekulert og synset mye omkring dårlig vannkvalitet både i den offentlige debatten og innen næringen selv. At vannkvalitet er viktig er alle enige om, men hva som avgjør vannkvaliteten i produksjonsheter for fisk er lite kjent. Når man behandler dette temaet må man også akseptere at de fleste av de aktuelle vannkvalitets parametre er særdeles dynamiske og varierer mye med naturmessige og biologiske faktorer som oppdretter bare delvis rår over. Av denne grunn er det vanskelig å sette eksakte grenser. Imidlertid er det viktig å spre kunnskap om hvordan vannkvalitet og fysiologi henger sammen slik at de som produserer fisk og de som skal overvåke fiskeproduksjonen, er i stand til å trekke de rette konklusjoner under ulike betingelser. Denne utredning forsøker å illustrere noe av dynamikken i dette temaet.

## **Bakgrunn for rapporten**

Bakgrunnen for denne rapporten er at Mattilsynet har forskriftsbestemmelser under utarbeidelse. Forskriftene skal regulere dyrevelferden ved hold og transport av fisk. Vannkvalitet og vannmengde er sentrale tema i den sammenheng. Bestemmelsene skal i utgangspunktet gjelde alle fiskearter, selv om dagens kunnskap for det meste er knyttet til oppdrett av laks og ørret.

For å kunne sikre dyra en god vannkvalitet og kunne regulere vannkvaliteten på en hensiktsmessig måte er det behov for å vite hvilke parametere som er av avgjørende betydning for fiskens trivsel og helse, og som det derfor bør være kontroll på. I tillegg ønsker Mattilsynet at det fastsettes grenseverdier for det enkelte stoffet. I denne forbindelse er det viktig å kjenne til sammenhengen mellom disse stoffene og hvordan de gjensidig påvirker hverandre.

Europarådet har i flere år arbeidet med å vedta anbefalinger om hold av fisk, og det er laget vedlegg for artene laks, ørret, seabream og seabass. Mattilsynet i Norge ønsker å få en vurdering av hvor gode disse bestemmelsene er i forhold til å ivareta fiskevelferden.

## **Mandat og omfang**

I denne utredning har KPMG arbeidet under følgende mandat;

Mattilsynet ønsket primært en anbefaling om hvordan vannkvalitet og vannmengde kan reguleres på en best mulig måte for å sørge for at fisk sikres et forsvarlig levemiljø. Sentrale spørsmål som skulle fokuseres var:

- Hvilke parametere bør overvåkes og på hvilken måte (kontinuerlig, daglig etc).
- Hvordan er sammenhengen mellom de utvalgte parametrene, og er det noe her som krever særskilt regulering?
- Det er ønskelig å skille på art og om nødvendig på de forskjellige utviklingsstadiene.
- Hvilke vannmengder må til for å sikre fisk et forsvarlig miljø.
- I hvilken grad kan oksygentilsetting kompensere for vannmengde eller er det grenser for hvor mye oksygen som kan tilsettes?
- Det er ønskelig at vannkvalitetsparametrene ses i sammenheng med fisketetthet.

Mattilsynet ønsket også at det må skilles mellom vannkvalitet under oppdrettsbetingelser, i forbindelse med håndtering/trenging, samt under transport.

Det har vært viktig at det finnes utstyr og eller analysetjenester som kan måle de utvalgte parametrene på en pålitelig måte.

Vi var bedt om å se på håndtering av fisk. I forbindelse med håndtering vil det være behov for å ta fisk ut av vannet, enten i u-bedøvd eller bedøvd tilstand. Dette gjelder bedøvelse i forbindelse med håndtering, ikke avlivning. Mattilsynet har ønsket å belyse hvor lenge vil det være forsvarlig å fjerne fisken fra vannet uten at dette får konsekvenser for fisken herunder når den returneres til vannet. Det var og ønskelig å

skille mellom u-bedøvd og bedøvd tilstand.

Primært ønsket Mattilsynet svar på disse spørsmålene i forhold til laks og ørret. Om det foreligger tilstrekkelig kunnskap om arter som torsk, kveite, steinbit og piggvar slik at spørsmålene kan besvares, er dette fordelaktig.

### ***Tolkning av mandatet***

Vi har bygget vår utredning på en tolkning av mandatet. Mandatet var meget stort og budsjettet for utredningen meget begrenset. Av denne grunn har vi lagt avgjørende vekt på laksefisk og på å belyse sammenhenger i de prosessene (fysiologisk og vannkjemisk) som vi mener har størst relevans for temaet vannkvalitet og dyrevelferd. Når vi ser på vannkvalitetsparametere så omfatter dette temaet en lang rekke kjemiske stoffer og komponenter. Noen er utredet med tanke på effekt på fiskefysiologi, mens andre ikke er undersøkt. Det er også en lang rekke rent kjemiske forhold og kombinasjonseffekter som har relevans for fisk, men som vi ikke har hatt muligheter for å belyse innenfor disse rammene. Vi har derfor lagt vekt på å beskrive forholdene rundt de viktigste metabolitter, salinitet, pH, temperatur, samt de mest relevante metallene.

Vi har gått igjennom en stor mengde vitenskapelige publikasjoner, men har også benyttet data fra det store empiriske materiale som har fremkommet fra VK-undersøkelsene i norsk settefisknæring fra 1999 til 2003. Dette utgjør nå verdens antatt største database på intensivt oppdrettsvann. I tillegg har arbeid som KPMG og NIVA har gjort i fellesskap knyttet til forskningsprosjekter og industrioppdrag innen vannkvalitet vært viktig for våre vurderinger. Vi har og dratt stor nytte av vår medvirkning i forskningsprogrammet til FHL havbruk på ”Vannkvalitet og prestasjon i sjø” .

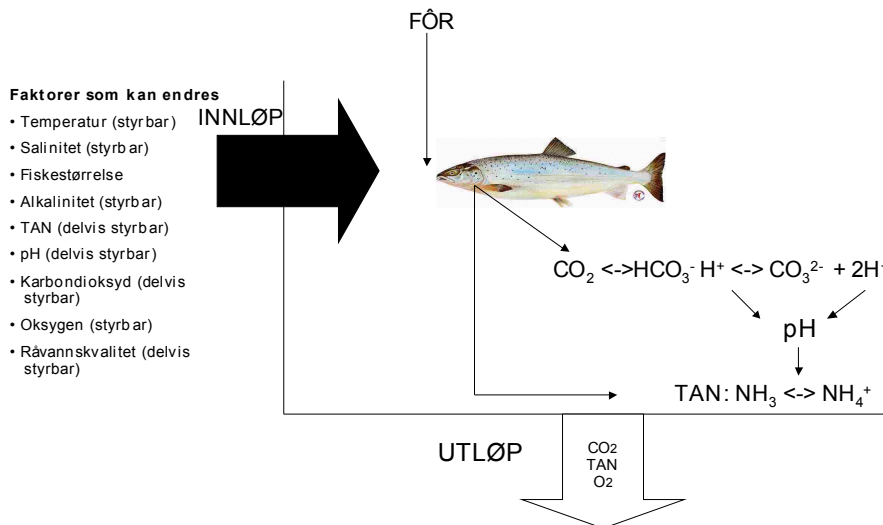
### **Vannkvaliteten vs dyrevelferd - et sentralt spørsmål**

Målet for en oppdretter vil alltid være å maksimere den biologiske produksjonen ut i fra de basis forutsetninger han rår over. Det viktigste vil være å produsere en sunn og sterk fisk som tåler de påkjenner den blir utsatt for uten at homeostasen blir vesentlig forstyrret og at fisken får sekundære fysiologiske forstyrrelser (følgeskader).

I et fiskevelferdsperspektiv kommer begrep som etikk og smerte med i bildet. Dette er omtalt senere i uredningen. Smertegrepet er imidlertid etter vår oppfattelse kun aktuelt ved håndtering av fisk, samt ved bedøvelse og avlivning. Vi har derfor valgt å konsentrere oss om en tilnærming som til en viss grad forsøker å forene det etiske med det fysiologiske selv om smertebegrepet er omtalt i relativt stor detalj. En tilnærming vil da være at vannkvaliteten i oppdrett ikke er etisk når man kan måle vedvarende fysiologiske forstyrrelser og kraftig nedsatt prestasjon (vekst og overlevelse). Dette er en noe strengere og mer krevende tilnærming enn om man kun ser på de nivå som induserer dødelighet. For at dette skal bli praktisk håndterlig må man også tillate en viss form for romslighet i forståelsen at alle produksjonsdyr fra tid til annen vil kunne oppleve miljøforhold som ikke er fysiologisk optimale. Eksempler

på dette er flytte- og håndteringsprosesser som i seg selv er stressende, men hvor resultatet av operasjonen kan være bedre miljø og bedre vekstforhold (f.eks lavere tetthet). Likeså vil produksjonsdyr i oppdrett nødvendigvis bli utsatt for de miljømessige svingningene som følger av naturens egne variasjoner og disse kan medføre potensielt dårlig vannkvalitet. Vår tilnærming er at man til en viss grad må akseptere svingninger i vannkvalitet som følge av naturlige sesong- og miljøsvingninger. Oppdrettet blir ikke nødvendig mer etisk av å innføre økt grad av teknologisk manipulasjon av vannkvalitet for å hindre naturlige svingninger.

På mange måter kan en intensiv oppdrettsenhet sammenliknes med en respirator, dvs et avgrenset basseng, der man søker å opprettholde best mulige betingelser ved å tilsette det fisken bruker opp og fjerne det fisken skiller ut. Det er metabolittene som fisken skiller ut og som ikke vaskes tilstrekkelig fort ut av oppdrettsenheten, som har størst potensial til å skape dyreværsmessige uheldige forhold. Figur 1 viser noen av de faktorer oppdretter kan styre og hvordan fisken fungerer som en ren ”forbrenningsmotor” med utslipp av ”avgasser” til vannet..



Figur 1 Illustrasjon av noen av de viktigste prosessene vannkjemisk i et oppdrettskar.

Industrielt oppdrett av fisk på land (les : settefisk, piggvar, steinbit, røye, kveite) ville ikke være mulig om man ikke fikk lov til å manipulere på de angitte faktorene eller ikke ville tillate en viss form for akkumulering av metabolitter.

Vi forutsetter videre at vi i denne utredningen ser på gjennomstrømmingssystem som den aktuelle oppdrettsteknologi. Dette er den teknologien som i all hovedsak er benyttet i Norge. Unntaket er i kapitelet som omhandler transport. Der har vi lagt vekt på å belyse problemene som kan oppstå vannkvalitetsmessig i et lukket system, dvs et system uten tilførsel av nytt frisk vann.

Vannmiljøet anses som avgjørende for fiskens trivsel og helse. Fisk har utviklet bestemte krav til omgivelsene når det gjelder temperatur og innhold av ulike forbindelser som oksygen, karbondioksyd, ammoniakk, partikler, syre og ulike



metaller. For de ulike parametrene er det bestemte toleranseområder, men det er viktig å være klar over at samvirke mellom ulike parametre kan være slik at den negative effekten av en vannparameter kan forsterke (virke synergistisk) eller minske den negative effekten (antagonistisk) av en parameter.

For all fisk er enkelte utviklingsstadier mer følsomme en andre. Dette gjelder særlig de fasene hvor fisken omdannes, såkalte metamorfoser. Et eksempel på dette er smoltifisering hos laks, der fisken skal omstille seg fra å leve i ferskvann til å overleve i sjøvann.

Gjellene anses som fiskens viktigste organ i regulering av kroppens indre miljø i forhold til omgivelsene. De er utsatt for påvirkning ved ugunstig vannmiljø. Dårlig vannkvalitet, inkludert miljøgifter vil påvirke gjellefunksjonen ved direkte effekt på biokjemiske og fysiologiske prosesser og / eller ved at de fører til strukturendringer (gjelleskader) som endrer funksjonen til organet. Gjellenes funksjon er gassutveksling (respirasjon), vann- og ioneregulering (osmoregulering), utskillelse av nitrogen og syre – base regulering. En normal funksjon i disse fysiologiske prosessene er helt nødvendig for at fisken skal opprettholde indre miljø i fysiologisk likevekt (homeostase). Dersom forstyrrelsene blir for store vil ikke fisken kunne opprettholde homeostasen, og den vil dø. Ikke-dødelige (subletale) fysiologiske forstyrrelser i mindre giftig vann kan indusere kompensasjonsmekanismer for å opprettholde homeostasen. Dette vil under gitte betingelser kunne påvirke vekst, gi større følsomhet for andre stressfaktorer og gi lavere sykdomstoleranse.

### **Litt om angivelse av en del grenseverdier**

For noen parametere er det angitt grenseverdier. Vi har valgt å dele inn dette i fire nivå. ”Optimum” er det nivå man bør strebe etter å tilby med minst mulig variasjoner. ”Tålbart” er det nivå man ser at fisken utsettes for og takler i en oppdrettssituasjon. ”Betinget” er nivå som fisken kan takle gitt at andre faktorer er spesielt gunstige. ”Ikke akseptabelt” er nivå man vil kunne få økt dødelighet for denne parameteren alene. Kravene er satt etter en samlet vurdering av det som er gjennomgått av litteratur, samt praktiske erfaringer. Det er usikkerhetsgrader av forkjellig nivå assosiert med alle klassene. Andre steder er grenseverdi betraktninger bare angitt i teksten.

Dyrevelferd og vannkvalitet – de viktigste parametrene

I dette kapitlet foretar vi en gjennomgang av de prosesser og parametre vi ser som de viktigste i forhold til dyrevelferd og vannkvalitet.

### **Oksygen**

Løst oksygen er den første vannkvalitetsparameter som begrenser produksjonen i både åpne og lukkede oppdrettsanlegg. Denne begrensningen kommer av det relativt store oksygenbehovet som konsumeres av biomassen innen systemet, den relativt lave løseligheten av oksygen i vann og den begrensede tilførselen fra de to naturlige kildene til løst oksygen, nemlig vannutskiftning med frisk vann og fotosyntese. I et moderne oppdrett må man tilføre oksygen i samme takt som hastigheten på biomasseøkningen som kommer fra fôring hver dag (Colt et al, 1991)<sup>1</sup>.

Krav til oksygeninnhold for fisk oppsummeres i tabell 1. Det er usikkerhetsgrader av forskjellig nivå assosiert med alle klassene.

*Tabell 1 Krav til oksygeninnhold (som % metning eller mg/l) for de ulike oppdrettsartene.*

Art	Optimum	Tålbart	Betinget	Ikke akseptabelt
Laksefisk	100%	60%	50%	≤40%
Torsk	100%	56%	34%	≤ 30%
Piggvar	100%	60%	4,4 mg/l	Ikke tilgjengelig
Kveite	100%	7 mg/l	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig
Steinbit	100%	4,0 mg/l*	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig

\*Ref. Foss et al., 2002. *Aquaculture Research*

Oksygenforbruket er et indirekte mål på energiforbruket (metabolismen) og en lang rekke faktorer påvirker dette. Siden dette er meget komplekst og dynamisk vil matematiske modeller for oksygenforbruk hos fisk ofte ikke stemme med det oksygenforbruket som erfares under praktisk oppdrett. Dette gjør at de vannkvalitetsparametre som er knyttet til metabolismen er vanskelig å beregne eksakt.

De viktigste faktorene som bestemmer oksygenforbruket og indirekte vannkvaliteten hos fisk er kroppsstørrelse, vanntemperatur, stress, aktivitet – svømmehastighet, fôropptak, samt livsfase. Effekten av fôring på oksygenforbruket er nært knyttet til temperaturen og øker med økende totalt fôrinntak, men påvirkes også av faktorer som fôringsregime.

Når vi skal se på karmiljø og fiskevelferd er det svært nyttig å ha en god forståelse for oksygenforbruk hos fisken. Oksygenforbruket hos laksefisk har blitt utledet av (Grøttum et al., 1993).

$$V(\text{laks}) = 62 \text{ BW}^{-0,33} 1,03^t 1,79^u$$

- V = oksygenforbruket
- BW = kroppsvekten
- t = vanntemperatur
- u = vannstrøm (m s<sup>-1</sup>)

Liknende modeller har blitt utviklet for torsk av Næss, 1993 (ref. mangler). Her har man imidlertid sett bort fra svømmehastigheten.

$$V(\text{torsk}) = 30.11 BW^{-0.17} 1,08^t \text{ (sultet fisk)}$$
$$V(\text{torsk}) = 44.57 BW^{-0.15} 1,09^t \text{ (fôret fisk)}$$

Metabolismen er nært knyttet til fôropptak og vekst. Dette er også gode hjelpemidler for å beregne hvilken biomasse oppdrettsenheten vil ha etter noen dager uker med fôring. Poenget er at forholdet mellom biomassen og vanntilførselen endrer seg i negativ retning når fisken vokser og vanntilførselen forblir konstant. Man har således følgende valg;

- A. Justere opp vannmengden i takt med vekst i biomassen.
- B. Bestemme seg hvilket intervall man vil akseptere på spesifikt vannforbruk, dvs et start verdi og en minimumsverdi som ikke skal overskrides. Når minimums verdien oppnåes, må det foretas splitting av biomassen i en ny enhet eller økning i vannforsyningen.

Ganske nylig har Björnsson og Steinarsson, 2002 (ref. mangler) studert vekst hos torsk i systemer med ubegrenset fôrtilgang. Som typisk for alle oppdrettsaktuelle arter fant man også for torsk at veksten avtar lineært med kroppsstørrelse. Tilveksten var også bedre ved høyere temperatur opp til et optimum som varierte med fiskestørrelse. Konklusjonen i deres analyse var at større fisk har lavere optimumstemperatur for vekst og mindre fisk må ha høyere vanntemperatur for å kunne oppnå optimums vekst. Dette er utledet i formelen under som skal gjelde for torsk mellom 2-5000g;

$$G(\text{torsk}) = (0,5735T)W^{(-0,1934-0,02001T)}$$

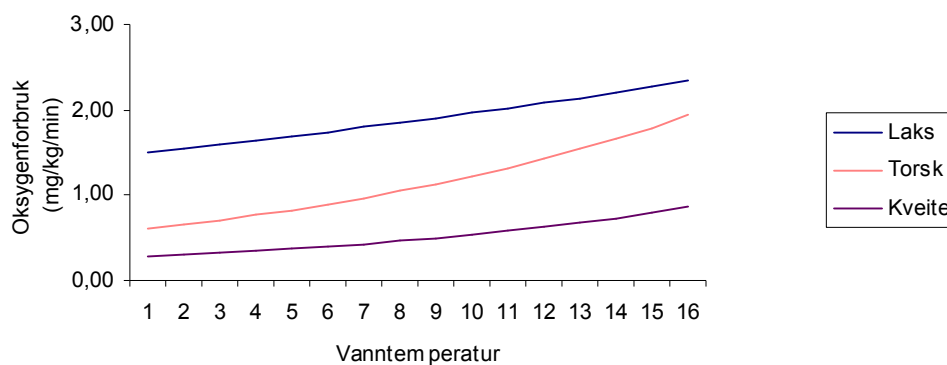
$G$  = tilvekst %/dag  
 $T$  = vanntemperatur  
 $W$  = kroppsvekten

For kveite har Gausen, 1994 funnet å kunne utlede oksygenforbruket i forhold til følgende formel.

$$V(\text{kveite}) = 12,94 BW^{-0.22} 1,08^t \text{ (sultet fisk)}$$
$$V(\text{kveite}) = 23,29 BW^{-0.20} \text{ (fôret fisk 8 grader)}$$

Man ser at oksygenforbruket er vesentlig lavere for torsk og kveite enn de som er funnet for laks. Dette forklares med det høyere aktivitetsnivå og høyere metabolisme som er assosiert med laksefisk. Modeller for oksygenforbruk er uansett bare grove estimater, men for illustrasjonens skyld har vi ut i fra formlene over satt opp følgende kurver for 0,5 kg fisk for å illustrere forskjellen i oksygenforbruk mellom tre av de aktuelle oppdrettsartene. Betydningen av dette vises i figur 2, neste side.

**Sammenligning av teoretisk oksygenforbruk for laks, torsk og kveite**



Figur 2 Sammenligning av oksygenforbruket til laks, kveite og torsk.

Oksygenforbruket er kanskje den viktigste parameter å få kontroll over i en oppdrettssammenheng. Dette fordi mangel på oksygen er kanskje den enkleste vannkvalitetsparameter å knytte til sviktende dyrevelferd, men også fordi oksygenforbruket gir oss direkte informasjon om forventet endring av vannkvalitet når det gjelder ekskresjonsproduktene (karbondioksyd og ammoniakk). Forbruket av oksygen er relativt lett å estimere om man kjenner oksygenkonsentrasjonen på innløps- og avløpsvannet, vannmengden inn i karet, samt biomassen. Om vi ser bort fra den langsomme oksygenutvekslingen som også foregår over vannflaten kan følgende formel benyttes i praktiske vurderinger;

$$SPOF = [(C_{inn} - C_{ut}) * Q] / B$$

SPOF (spesifikt oksygenforbruk) = mg Oksygen/ kg fisk/ minutt

- $C_{inn}$  = Oksygenkonsentrasjon inn i karet i mg / liter
- $C_{ut}$  = Oksygenkonsentrasjonen ut av karet i mg / liter
- $Q$  = vannmengden i liter / minutt
- $B$  = biomassen i kg

Eksempel,

- $C_{inn}$  = 16 mg / liter
- $C_{ut}$  = 8 mg / liter
- $Q$  = 400 liter / minutt
- $B$  = 1500 biomassen i kg

$$SPOF = [(16 \text{ mg/l} - 8 \text{ mg/l}) * 400 \text{ l/min}] / 1500 \text{ kg}$$

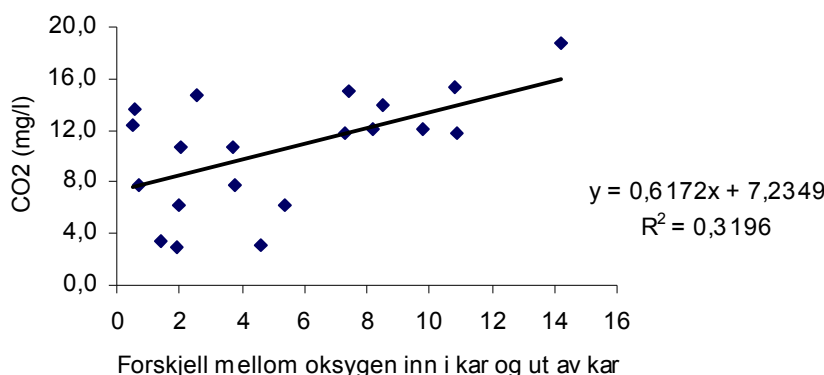
SPOF = 2,13 mg / kg min

Når vi kjenner oksygenforbruket til fisken kan mengden fiskeprodusert karbondioksyd og ammonium estimeres med en brukbar treffsikkerhet i et kar med vanngjennomstrømming. En kan grovt sett regne at karbondioksyd produseres i forholdet 1:1,1 i forhold til oksygenforbruket og at ammoniakkforbindelsene står i forhold til dette.

### Eksempel :

Oksygendropp fra innløp til avløp i et kar på 8 mg/l skulle da gi en CO<sub>2</sub> konsentrasjon på ca 8,8 mg/l. Dette er en tilnærming, men empiriske data fra vannkvalitetsundersøkelsene (Rosten et. al. 2003)<sup>ii</sup> viser at slike estimat stemmer forholdsvis godt. Se figur 3 på denne side.

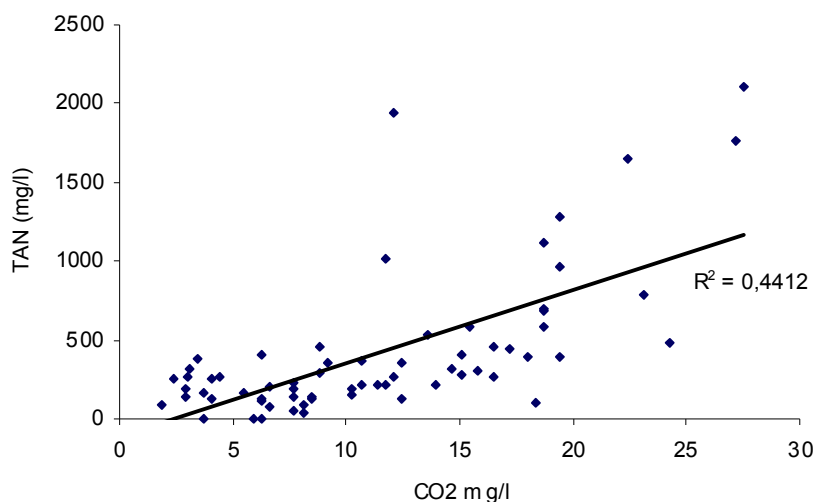
### Sammenhenger mellom oksygenforbruk og CO<sub>2</sub>



Figur 3 Sammenhenger mellom oksygenforbruk i kar og CO<sub>2</sub> nivå i kar med laksesmolt. Sammenhengene er funnet empirisk i data fra VK-undersøkelsene fra 1999 til 2001.

Det er også vist en klar sammenheng mellom CO<sub>2</sub> nivå i kar og TAN nivå i oppdrettskar for laksesmolt slik vi kunne forvente ut i fra metabolismen. Figur 4 på neste side viser at den teoretiske sammenheng lar seg måle i praksis. Vi ser at man får ca 4,5 % TAN i oppdrettskaret for hvert mg/l CO<sub>2</sub>. Vi gjør oppmerksom på at disse tallene er fremkommet med et representativt utvalg av ulike spesifikke vannforbruk (snitt 0,4 liter vann/kg fisk/min) fra 115 norske settefiskanlegg (Rosten et al 2003).

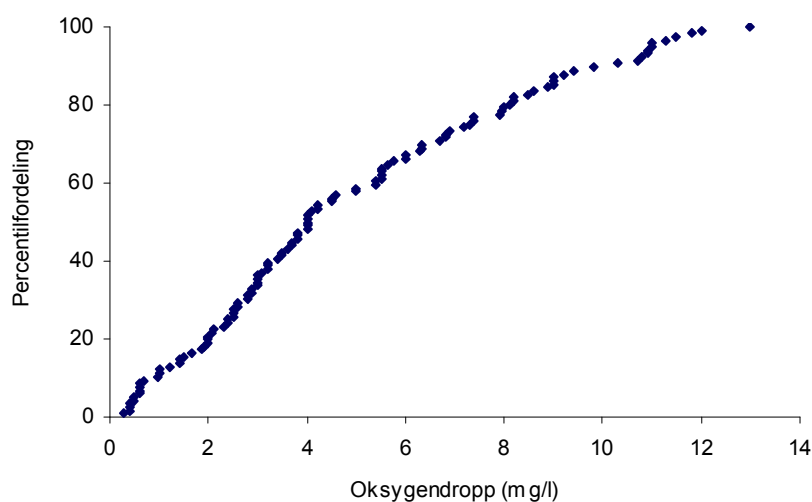
#### NH<sub>4</sub>-N µg/L vs CO<sub>2</sub> mg/l



Figur 4 Sammenhenger mellom CO<sub>2</sub> nivå i kar og TAN nivå i kar med laksesmolt. Sammenhengene er funnet empirisk i data fra VK-undersøkelsene fra 1999 til 2001.

Vannkvalitetsundersøkelsene har vist at gjennomsnittlig oksygendropp fra inntaksvann til avløpsvann ved produksjon av laksesmolt ligger på ca 6,0 mg/l. Dette er data fremkommet fra undersøkelser ved norske settefiskanlegg for laks. Figur 5 nedenfor viser imidlertid at spredningen er stor mellom de minst og mest intensive anleggene.

#### Oksygendropp i kar VK 1999-2001



Figur 5 Percentilfordeling av oksygenforbruket, målt som dropp i oksygen fra innløp til avløp i norske settefiskanlegg for laks. Sammenhengene er funnet empirisk i data fra VK-undersøkelsene fra 1999 til 2001 fra 116 norske anlegg.

En kan med stor sikkerhet si at vannkvaliteten i en oppdrettsenhet med store oksygendropp fra innløp til utløp må følges nøyer enn enheter med tilsvarende lite oksygendropp. Disse sammenhengene kan være viktige kontrollredskap i forhold til å avdekke eventuelle problemer med intensitetsgraden på anlegget, for eksempel gi indikasjoner på når man skal ta ut vannprøver for nærmere analyse/kontroll.

Et problem ved å bruke dette estimatet er at mange anlegg oksygenerer med steiner direkte i kar i tillegg til inntaksvannet. Det er ikke vanlig å registrere mengden oksygen som distribueres via slike system på en måte som kunne være fysiologisk interessant. Oksygenmengden inn fra slike anlegg er problematisk å vite.

Det må derfor kunne forventes av oppdretter at denne alene, eller i samarbeid med utstyrslleverandør, kan legge frem data på hvor mye mg/l oksygen som tilsettes hver oppdrettsenhet/minutt. Likeledes må det forventes at oppdretter kjenner oksygenkonsentrasjonen i avløpet, vannmengden inn i enheten, samt biomassen i enheten

### ***Temperatur***

Temperatur er en viktig parameter, både alene og fordi den modulerer metabolismen og derigjennom vannkvaliteten i intensive produksjonssystemer. Løseligheten av oksygen avtar ved økende temperatur, mens løseligheten av CO<sub>2</sub> øker med fallende temperatur. Giftigheten av ammoniakk øker ved lav temperatur, men mengden ammoniakk øker ved stigende tempertur.

Hver av artene har et temperaturoptimum. Temperaturoptimumet er alltid høyere for liten yngel enn for stor fisk, så dette vil variere. Fisk har også evne til å tilpasse seg både høye og lave temperaturer over tid. Ved ekstremtemperaturer (høye og lave) skal man være forsiktig med både føring og stressing av fisken (håndtering). I oppdrett responderer fisk godt på temperaturøkning i vannet med økt appetitt og foropptak, samtidig synes det å eksistere temperaturterskler som ikke skal overstiges for å unngå problemer med dyrevelferd. Mest kjent i så måte er at man risikerer økt deformasjonsgrad på laks ved eksponering av lakseembryo for temperaturer over 8 °C.

### ***Salinitet***

Salinitet er en viktig parameter både i vannbehandling, og for fiskens livsmiljø. Fisk som skal overleve og vokse normalt i sjøvann må ha utviklet en hyposmotisk reguleringsevne. All laksefisk gjennomgår en smoltifiseringsprosess som er styrt av kombinasjon av ekogene og endogene rytmer, temperatur og daglengdeforandring. Ikke smoltifisert laksefisk vil ikke kunne overleve eller vokse normalt i fullt sjøvann. Hos røye er den hyposmotiske reguleringsevnen bare beholdt om sommeren og da fra naturens side assosiert med næringssøk i fullt sjøvann. Torsk kan tolerere et forholdsvis vidt salinitetsspekter. Både steinbitt og piggvar kan tilpasse seg lave saliniteter. Steinbit får ikke redusert tilvekst ved en salinitet på 12 (Foss et al., 2001, J. Fish Biol.). Piggvar kan tilpasse seg en salinitet på 10, men vil få problemer med å tilpasse seg en salinitet på 5 (Gaumet et al., 1995, Fish Biol.). Man kjenner ikke til

kveitas toleranse for varierende salinitet (muntlig info fra kveiteforsker T. Kristiansen på Austevoll).

Sjøvann kan også benyttes som vannbehandling. En liten økning i saliniteten (opp til 1 ppt) kan være en god vannbehandling for surt ferskvann. Brakkvann kan ha den egenskapen at det inneholder en ustabil metallkjemi som kan forårsake utfelling av metaller på fiskegjellene.

### ***Gassovermetning med nitrogen***

Oppløseligheten av gasser i vann øker med økende trykk og minker med økende temperatur. Gassovermetning kan dermed oppstå når en blanding av vann og luft (eller gass) settes under trykk, samt ved oppvarming av vann. De gassene som normalt forbindes med gassovermetning i oppdrett av fisk er nitrogen (N<sub>2</sub>), oksygen (O<sub>2</sub>) og karbondioksyd (CO<sub>2</sub>). De vanligste årsakene til gassovermetning i landbaserte oppdrettsanlegg er utette pumper og rør i undertrykk som suger luft (eller gass) inn i vannstrømmen og oppvarming av vann. Det er også vist at gassovermetning kan oppstå i inntaksvannet i forbindelse med kraftig vindomrøring av vannmassen.

Nyere undersøkelser viser at det kan forekomme dødelighet og skader ned mot så lave verdier som 102-103% nitrogenovermetning. Fra operasjonell drift i settefiskanlegg for laks ser det ut til at kronisk eksponering for gassovermetning kan øke risikoen for å utløse IPN utbrudd. Akutt nitrogenovermetning oppstår raskt ved >110-115% metning. Når fisken først er eksponert, er dette ikke reversibelt og dødelighet kan raskt oppstå på grunn av emboliindusert blodpropp. Makroskopisk kan man observere gassblærer i bløtvev mellom finnestråler, i ganen, i øyet og i gjellenes blodkar. Kronisk gassovermetning, som er en reversibel lidelse kan også oppstå ved blanding av ferskvann og sjøvann på settefiskanlegg. Dette er som regel forårsaket av ulik tempertur og blanding direkte i kar uten lufting.

I praktisk drift er problemet med gassovermetning potensielt størst i klekkeri og startfôringsavdelinger der vannet varmes opp. Dårlige dimensjonerte og/eller manglende vedlikehold og reingjøring av luftere vil kunne gi kronisk nitrogengassovermetning. Disse tekniske installasjonene må derfor kontrolleres. Man skal også være klar over at vanddybden i karene spiller en vesentlig rolle for fiskens mulighet for å utligne en gassovermetning. Et overtrykk på 3% kan utlignes ved at fisken går ned på 1m vannsøyle. Grunne kar representerer derfor et større problem i forhold til nitrogengassovermetning enn dype kar. Fordeling av fisken i vannsøylen er derfor relevant i forhold til dette problemet. Fisk som står høyt i vannsøylen har større risiko for å bli utsatt for overmetningsproblematikk. Rent teknisk så kan overmetning på inntaksvann løses ved å vakuumere deler av vannstrømmen, eller det kan bygges luftetårn.

### ***Surt vann (pH)***

Surt råvann (ferskvann) er et problem for settefisknæringen i Norge. Vannkvalitets (VK)- undersøkelsene for perioden 1999 – 2001 har dokumentert at om lag 20% av de undersøkte anleggene har lavere pH enn 6,0 i råvannet. Problemene som forårsakes av surt råvann er hovedsakelig knyttet til giftigheten av metaller, spesielt aluminium. Eksponering for surt vann vil kunne medføre at fiskens homeostase forstyrres og det



kan således hevdes at det kan være dyrevernmessig uheldig å eksponere fisken for dette. Det kan derfor argumenteres ut i fra dyrevelferd at det må gjennomføres vannbehandling i de anlegg som har problemer med surt metallholdig råvann.

Krav til pH for fisk oppsummeres i tabell 2.

*Tabell 2 Krav til pH i karvann for de ulike oppdrettsartene.*

Art	Optimum	Tålbart	Betinget	Ikke akseptabelt
Laksefisk	6,5-6,7	6,5 -5,7	5,0	< 5,0
Torsk	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig
Piggvar	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig
Kveite	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig
Steinbit*	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig

\* (Foss et al., 2003. *Aquaculture* 220:607-617) tester tilvekst etc. ved pH fra 6.45-8.10, sammen med variasjoner i CO<sub>2</sub> (1.1-59,4mg/l). pH må sees i samband med CO<sub>2</sub>. CO<sub>2</sub> verdier over 33mg/l kan gi redusert tilvekst.

Tre hovedmetoder benyttes i laksenæringen for vannbehandling av surt råvann:

- Sjøvannstilsetning
- Kalking – enten i vannkilden eller med kalkslurry i driftsvannet
- Silikatlut behandling

Alle tre metodene medfører pH økning, og de to førstnevnte medfører også en økning av ionestyrken. I vannkvaliteter der lav pH er hovedproblemet, og aluminiumskonsentrasjonene er relativt lave, vil både kalking og begrenset sjøvannstilsetning kunne fungere bra opp til 3% (eller en promille). Kalking virker ved at den medfører pH-økning og dermed også en endring av tilstandsformen til aluminium slik at den blir mindre giftig. Virkningsmetoden til silikatlut (kalt ”silikat”) har vært dokumentert gjennom en rekke forsøk, og viser at dette kan være et godt alternativ til kalking. Silikat avgifter aluminium både indirekte ved pH-økningen og direkte gjennom at det dannes aluminium-silikat forbindelser som ikke er reaktive i forhold til gjellene (lav biotilgjengelighet). Avgiftning av aluminium er vesentlig raskere ved bruk av silikat enn ved bruk av kalk. Dette betyr at silikatbehandling kan være et meget godt alternativ når oppholdstiden etter behandling er begrenset. Det er også indikasjoner på at silikat kan hindre mobiliseringen av giftig Al etter sjøvannstilsetning.

Figur 6 Fordeling av pH i råvann i settefiskanlegg dokumentert gjennom VK-undersøkelsene i perioden 1999 til 2001.

### Aluminium

Aluminium er et vanlig forekommende metall i berggrunnen som frigjøres til overflatevann ved forvitningsprosesser. Sur nedbør medfører at mer aluminium løses ut. De negative effektene av aluminium for fisk er knyttet til utfellingene av metallet på fiskegjellene. Disse utfellingene forårsaker problemer for fisken både med hensyn på oksygenopptak (respirasjon) og saltregulering. Analyser av aluminiumskonsentrasjon på fiskens gjeller er et nyttig redskap for å dokumentere slike effekter. Fargemetoder på histologiske prøver (gjellesnitt) kan også dokumentere utfellingene av aluminium.

Laksefisk kan utsettes for aluminium både i settefiskanlegg og matfiskanlegg. Marin fisk og laksefisk i merd kan utsettes for jern i brakkvannssoner med metallholdig ferskvannlag.

Krav til aluminiumsnivå (labilt Al) for fisk oppsummeres i tabell 3. Det er usikkerhetsgrader av forskjellig nivå assosiert med alle klassene.

Tabell 3 Krav til maksimalinnhold av labilt aluminium i oppdrettsvann for de ulike oppdrettsartene .

Art	Optimum	Tålbart	Betinget	Ikke akseptabelt
Laksefisk	0	15 – 20 µg		
Torsk	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig
Piggvar	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig
Kveite	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig
Steinbit	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig

Aluminium kan foreligge i ulike tilstandsformer, og fordelingen mellom disse er avhengig av en rekke faktorer hvor pH er den viktigste. Konsentrasjonen av labil aluminium, også kalt uorganisk monomert aluminium, har tradisjonelt vært sett på som den mest giftige formen for fisk. En konsentrasjon på 15-20 µg labilt aluminium /

liter anses som en grenseverdi for skader på laksesmolt. Imidlertid regner man at man må opp i meget høyere konsentrasjoner for å få akutt dødelighet. En sammenstilling av samtlige data fra Vannkvalitets (VK-)undersøkelsene i settefiskanlegg har vist at om lag 10% av anleggene har slike konsentrasjoner i råvannet. Det reelle tallet er antagelig høyere ettersom sure episoder medfører en klar økning i konsentrasjonen av labilt aluminium. Det er derfor viktig å bli godt kjent med råvannskvaliteten på oppdrettslokaliteten.

Effekten av aluminiums på velferden hos fisk måles best ved å analysere gjelleprøver på utfelt aluminium. Her har man en del gode referansetall. I typisk ionefattige vannkvaliteter med lav TOC og lite partikler (turbiditet), anses  $\leq 10 \mu\text{g Al/g}$  gjelle (tørrvekt) som bakgrunnsnivå (Kroglund m.fl. 1998, 2001, Andersson og Nyberg 1984). Vårt erfaringsgrunnlag er størst på laks, der forsøk bl.a. fra Suldalslågen viste at man på laksesmolt må ha verdier på over 100-200  $\mu\text{g Al/g}$  gjelle for å se fysiologiske endringer og over 350  $\mu\text{gAl/g}$  gjelle for dødelighet i ferskvann. Sjøvannstoleransen ble påvirket ved over 40  $\mu\text{gAl/g}$  gjelle, mens dødelighet i sjøvann først oppstod med over 150  $\mu\text{g/g}$  gjelle (Kroglund m.fl. 1998). I oppdrettsanlegg er det registrert dødelighet med Al konsentrasjoner på under 100  $\mu\text{g Al/g}$  gjelle (Rosseland m.fl. 2002), og en helt ny undersøkelse som har inkludert marin overlevelse på utvandret laksesmolt, har vist en betydelig redusert marin overlevelse med gjellealuminium helt ned i 20 og 30  $\mu\text{g Al/g}$  gjelle tørrvekt, Kroglund og Finstad (2003).

Konsentrasjonen av organisk materiale er også viktig for giftigheten av aluminium, og ved høye humuskonsentrasjoner (høy TOC) vil en stor andel av aluminiumet foreligge på organisk bundet form, og derved være mindre giftig. Kalsiumkonsentrasjonen i vannet har også stor betydning for giftigheten av aluminium. Ved kalsiumkonsentrasjoner større enn 2 mg/l tåler fisken betydelig mer aluminium enn ved lavere konsentrasjoner.

Giftige blandsoner omtales ofte i sammenheng med aluminiums giftighet. Når surt, aluminiumsrikt ferskvann endrer pH f.eks. ved kalking eller ved blanding med sjøvann vil denne pH-endringen forårsake polymerisering av aluminium: dvs. at molekylstørrelsen øker. I denne fasen før en ny likevekt er oppnådd, kan aluminiums giftighet øke kraftig. Dette er årsaken til at en anbefaler en viss oppholdstid etter vannbehandling av aluminiumsrikt vann.

For laksefisk er både perioden forut for smoltifisering (vinter) og selve smoltifiseringen (vår) meget kritisk. Det er det klimatiske forløpet om vinteren i form av sjøsaltepisoder, avsmelting eller snøakkumulering som vil være bestemmende for kvaliteten på avrenningsvannet senere på våren (Bjerknes, 2003). Man har også vist at vannkvaliteten ofte er mer kritisk i forkant av en flom enn under selve hovedflommen

Et forhold man skal være klar over er at surt elvevann med aluminium kan ha betydning for oppdrettsfisk i merd i fjorden. Det er påvist aluminiumsutfellinger på gjeller i forbindelse med massiv dødelighet av oppdrettslaks i åpne merdanlegg i ferskvannspåvirkete fjorder, med økonomiske tap i millionklassen for oppdretterne. Dødeligheten er knyttet til kortvarige episoder på ettervinteren og våren, der mildvær, snøsmelting og store nedbørmengder fører til flom i nedbørfeltet, og markerte og

hurtige fall i salinitet (fra  $> 20 \text{ ‰}$  til  $< 10 \text{ ‰}$ ) og temperatur (fra  $7^{\circ}\text{C}$  til  $4^{\circ}\text{C}$ ) i overflatevannet i fjorden. Det ferske overflatevannet kan danne et lag på opptil 5-6 m dyp med tildels høye konsentrasjoner av aluminium ( $> 100 \text{ mg/l}$ ). Det er påvist kraftig økning av aluminium på gjeller av laks i oppdrettsanleggene, fra  $< 10 \text{ } \mu\text{g/g}$  tørrvekt under normale forhold til  $> 200 \text{ } \mu\text{g/g}$  tørrvekt i gjennomsnitt under ferskvannspåvirkning. I forbindelse med dødelighet er det påvist gjellealuminium på over  $2000 \text{ mg/g}$  tørrvekt (Bjerknes, 2003). Nyere data indikerer at det samme kan være tilfelle for marine arter som eksponeres for tilsvarende blandsoner.

### **Jern**

Jern er viktig for fisk, og inngår bl.a. som bestanddel i blodets hemoglobin. Høye jernkonsentrasjoner i vannet kan imidlertid forårsake fiskeskader og dødelighet. Jern kan forekomme i ulike tilstandsformer. Når to-verdig jern ( $\text{Fe}^{2+}$ ) kommer i kontakt med luft oksyderes det til tre-verdig jern ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Med mindre det treverdige jernet blir kompleksbundet, vil det felles ut som jernhydroksyd ( $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ). I denne fasen med kjemisk ustabilitet vil jernet kunne felles ut på fiskens gjeller, såkalt ”okerkveldning”.

Laksefisk kan utsettes for jern både i settefiskanlegg og matfiskanlegg. Marin fisk og laksefisk i merd kan utsettes for jern i brakkvannssoner med metallholdig ferskvannlag.

I settefiskanlegg med høye konsentrasjoner av to-verdig jern, spesielt fra grunnvann med minimal oksygentilgang, vil lufting/oksygenering kunne starte oksyderingen og utfelling av jernoksyd direkte i fiskekarene. Krav til maksimalt akseptabelt jernnivå i vann til for fisk oppsummeres i tabell 4. Det er usikkerhetsgrader av forskjellig nivå assosiert med alle klassene

*Tabell 4 Krav til maksimalinnhold av jern i oppdrettsvann for de ulike oppdrettsartene.*

Art	Optimum	Tålbart	Betinget	Ikke akseptabelt
Laksefisk			300-500 $\mu\text{g/l}$	$> 1000 \text{ } \mu\text{g/l}$
Torsk	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig
Piggvar	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig
Kveite	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig
Steinbit	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig

Også to-verdig jern er direkte toksisk ved at det hemmer fiskens kalsiumopptak, og vil også medføre lipidperoksidering (”harskning” av fett) og dannelse av frie radikaler i fisken. Jern og aluminium er rapportert å kunne forsterke de toksiske effektene av hverandre.

En viktig faktor for å bestemme giftigheten av jern er hvor stor andel av jernet som er organisk bundet. Flere forsøk har vist redusert giftighet av jern når humusinnholdet er høyt. På bakgrunn av Vannkvalitets (VK)-undersøkelsene i settefiskanlegg i perioden 1999-2002 har en sett at problemer kan oppstå når forholdet Fe/TOC blir større enn 40. Under ugunstige forhold ser det ut for at en kan få skader på fisken når jernkonsentrasjonen i vannet overstiger  $50 \text{ } \mu\text{g/l}$ . Amerikanske miljømyndigheter (US EPA) setter imidlertid en anbefalt grenseverdi på  $1,0 \text{ mg/l}$ .

Velferdsmessig kan det være relevant å måle jernutfelling på gjellene. Jernkonsentrasjoner i gjellevev vil både være en funksjon av blodmengden i vevet (jern fra hemoglobinet) og deposisjoner fra vann og partikler. Studier av Andersson og Nyberg (1984) oppgir referanseverdier på henholdsvis 180 µg Fe/g gjelle, med verdier på 170 – 600 µgFe/g gjelle under en flomepisode. NIVA/LAK har i flere sammenhenger målt jernverdier på mellom 100-150 µgFe/g gjelle tørrvekt i områder med lite jern i råvannet (Rosseland m.fl. 2002).

## **CO<sub>2</sub>**

CO<sub>2</sub> konsentrasjonen i vann i likevekt med luft vil være rundt 0,5 – 1 mg CO<sub>2</sub>/l. VK-undersøkelsene (Rosten et al, 2003) har vist at bakgrunnsnivå i råvannskildene til flere enn 100 smoltanlegg ligger på fra 1-2,5 mg CO<sub>2</sub>/l. I tørkeperioder vil imidlertid CO<sub>2</sub>-anrikt grunnvann kunne dominere i en råvannskilde (særlig sakteflytende rennende vann), og dersom temperaturen er lav kan dette føre til en CO<sub>2</sub>-overmetning som vanskelig fjernes ved tradisjonell lufting. For anlegg som ikke lenger lufter, men injiserer oksygen rett inn på hovedvannledningen, vil dette komme ”på toppen” av fiskens egenproduksjon av CO<sub>2</sub> i oppdrettsenheten. Fritt CO<sub>2</sub> vil derfor kunne være et problem ved landbasert produksjon med oksygentilsetning og også i lukket transport av fisk.

Høy CO<sub>2</sub> vil redusere pH i karvannet dersom bufferevnen er lav i vannet. Teoretisk kan aluminiums-avgiftet surt råvann (nøytralisert), bli mer giftig igjen ved at høy CO<sub>2</sub> i karet senker pH og ”remobiliserer” aluminium, som deretter felles ut på fiskegjellene.

Krav til maksimalt akseptabelt jernnivå i vann for fisk oppsummeres i tabell 5. Det er usikkerhetsgrader av forskjellig nivå assosiert med alle klassene

*Tabell 5 Krav til maksimalinnhold av CO<sub>2</sub> i oppdrettsvann for de ulike oppdrettsartene.*

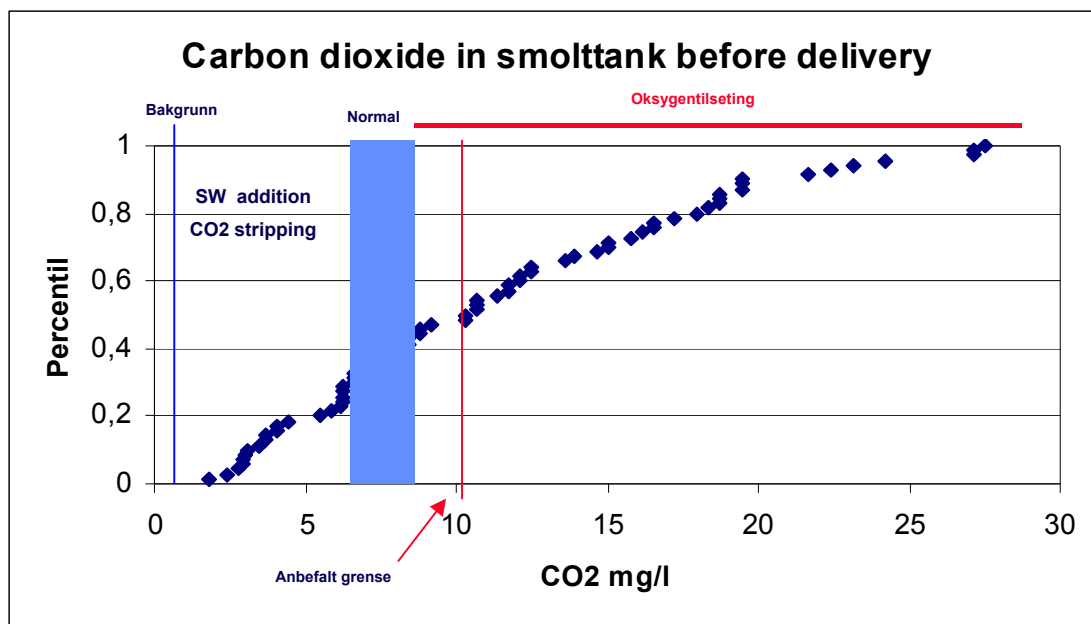
Art	Optimum	Tålbart	Betinget	Ikke akseptabelt
Laksefisk	1-10 mg/l	10-40 mg/l	60 mg/l	100 mg/l
Torsk	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig
Piggvar	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig
Kveite	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig
Steinbit	Ikke tilgjengelig	33.5 mg/l*	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig

*\*jfr. Foss et al., 2003 (samme ref som pH påvirkning s. 17)*

Det finnes ingen entydige og universelle grenseverdier for CO<sub>2</sub>, men i litteraturen er det beskrevet en terskelverdi for akutt gifteffekt i området 20-100 mg CO<sub>2</sub>/l, avhengig av art, livsstadium, pH, temperatur, oksygeninnhold og sannsynligvis generell vannkvalitet. Ved høye konsentrasjoner av karbondioksid i vannet reduseres fiskens kapasitet for oksygenopptak og syre-/base-regulering ved at CO<sub>2</sub> konsentrasjonen i fiskens blod øker, blod-pH senkes og hemoglobinet oksygenbinding reduseres. Høyt CO<sub>2</sub> har lenge vært kjent for å kunne føre til bedøvelse av fisk (sleeping disease), og utfelling av kalk i nyrene. Såkalt ”nefrocalcinose”, er påvist ved konsentrasjoner ned mot 10 mg CO<sub>2</sub> /l etter lang tids eksponering. CO<sub>2</sub> har imidlertid også beskyttende effekter mot ammoniakk giftighet ved at den senker pH og øker andelen med ”ugiftig” ammonium (se ammoniakk). Økt toleranse for CO<sub>2</sub> synes å være mulig å

oppnå ved å øke bikarbonatinnholdet i vannet ved vannbehandling som sjøvannstilsetning og kalking (Fivelstad et al. 1999)

Ved bruk av normalt luftet vann, og en metningsgrad ut av fiskekaret på 60-70%, vil en normalt aldri oppnå høyere konsentrasjoner enn fra 6-8 mgCO<sub>2</sub>/l. Høy CO<sub>2</sub> i intensivt oppdrett (30- 40 mgCO<sub>2</sub>/l), er derfor en følge av lavt vannforbruk, høy fisketetthet og stort forbruk av oksygen tilsatt i overmetning. I tidligere litteratur er det i svært liten grad skilt på om effekter av ”høy CO<sub>2</sub>” skyldes CO<sub>2</sub>-gassen i seg selv eller om det er i kombinasjon med superoksygenering og dannelse av frie radikaler (se oksidativt stress). Data fra Vannkvalitets (VK)-undersøkelsene synes å antyde et problemområde for laksesmolt når CO<sub>2</sub> >13-15 mg/l (se figur 7). Det eksisterer likevel mye praktisk erfaring fra oppdrett av laks og ørret som viser at eksponering for langt høyere CO<sub>2</sub> verdier er uproblematisk. Hva som gjør denne forskjellen er imidlertid lite kjent, men erfaring fra næringen antyder at hyppige og brå svingninger er mer problematisk enn at CO<sub>2</sub> nivået gradvis har fått øke.



Figur 7 Karbondioksid (mg/l) i smoltkar 1 uke før levering i norske settefiskanlegg.

Man må også regne det som normalt at CO<sub>2</sub> konsentrasjonen er høyere i enheter med høy vanntemperatur og der fisken er mindre (høyere metabolisme). Det er derfor normalt å påvise de høyeste CO<sub>2</sub> konsentrasjon i yngel kar og i kar for nullårig smolt om høsten.

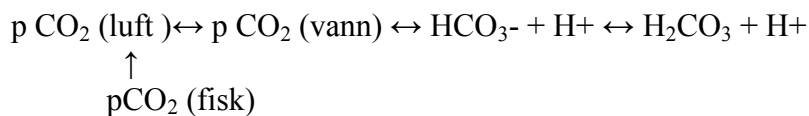
Det er gjort få undersøkelser av langtidseffekter av karbondioksyd på fisk og toleransegrensene er usikre. Foss et al., 2003 påviste at vekst hos flekksteinbit ble kraftig redusert når CO<sub>2</sub> konsentrasjonen kom opp i 5934 mg/l over en 10 ukers periode. Ved CO<sub>2</sub> verdier lavere enn 33,5 mg/l ble ikke tilveksten påvirket.

Omfattende CO<sub>2</sub>-analysering for oppdrettsbransjen startet i 1999 i forbindelse med et stort ”Brønnbåtprosjekt” i samarbeid med VK-partnerne KPMG og IJVF-NLH (Rosten et al 2000), og fortsatte med undersøkelser av norske settefiskanlegg fra VK 2002 (Rosten et. al 2003). Arbeidet har vist at en forutsetning for gode analyser er at man konserverer vannprøver på stedet ved hjelp av en kjemisk bioblokker

(kvikksølvklorid) og at man benytter spesialdesignede tette glassflasker. Dette hindrer gassutveksling og biologisk aktivitet som ville kunne gi feil verdier. Det er undersøkt hvorvidt bruk av engangskit kan benyttes for kontroll av CO<sub>2</sub>-konsentrasjonen i oppdrettsanlegg. Erfaringene med dette er blandet, og usikkerheten anses som for stor til at dette skal kunne benytte i kontroll / dokumentasjon ovenfor tredjepart. Men som intern kontroll kan de ha sin misjon (Torstein Kristensen, pers. med).

### **Usikkerheter og forbedringspotensial ved måling av CO<sub>2</sub>**

Karbondioksyd er meget løselig i vann og står i en likevektsreaksjon. Forenklet skisse av CO<sub>2</sub>-bikarbonatsystemet:



Det er viktig å merke seg at både likevektskonstanter og reaksjonshastigheter vil variere med miljøforhold som pH, ionestyrke, temperatur og andre vannkjemiske parametre. Det er i hovedsak pCO<sub>2</sub> som er fysiologisk viktig for fisken, da fisken må skille ut CO<sub>2</sub> som pCO<sub>2</sub> og er avhengig av å generere en positiv konsentrasjonsgradient fra blod til vann.

De fleste metoder for å måle CO<sub>2</sub> baserer seg på en indirekte beregning av fritt CO<sub>2</sub> (uttrykt i mg/l eller som partialtrykk, pCO<sub>2</sub>, mmHg). Ved å gjøre tre antakelser beregnes fritt CO<sub>2</sub> ved å måle pH og alkalitet (bufferkapasitet), eller eventuelt kun bufferkapasitet (evne til å motstå pH-endring ved tilsetning av syre eller base) ved titrering.

Sentrale antakelser:

1. Bikarbonat er det helt dominerende buffersystem i vannet
2. pCO<sub>2</sub> utskilt fra fisken er i likevekt med bikarbonatsystemet i vannet

Forutsetning 1 er ofte ikke korrekt for norsk overflatevann, som ofte er ekstremt ionefattig. Andre buffersystemer som humussyrer (målt som DOC eller TOC) og metaller (Fe og Al) kan utgjøre en stor del av bufferkapasiteten, og derfor utgjøre en stor feilkilde i CO<sub>2</sub>-beregningen. I et intensivt oppdrettssystem kommer i tillegg organisk materiale fra fôr og feces, samt utskilt ammonium og ammoniakk inn som viktige feilkilder som kan bidra mye til bufferkapasiteten.

I tillegg vil det være vanskelig å få sammenlignbare tall med titreringsmetoder når en måler i vann med svært ulike egenskaper, for eksempel ferskvann, sjøvann og brakkevann.

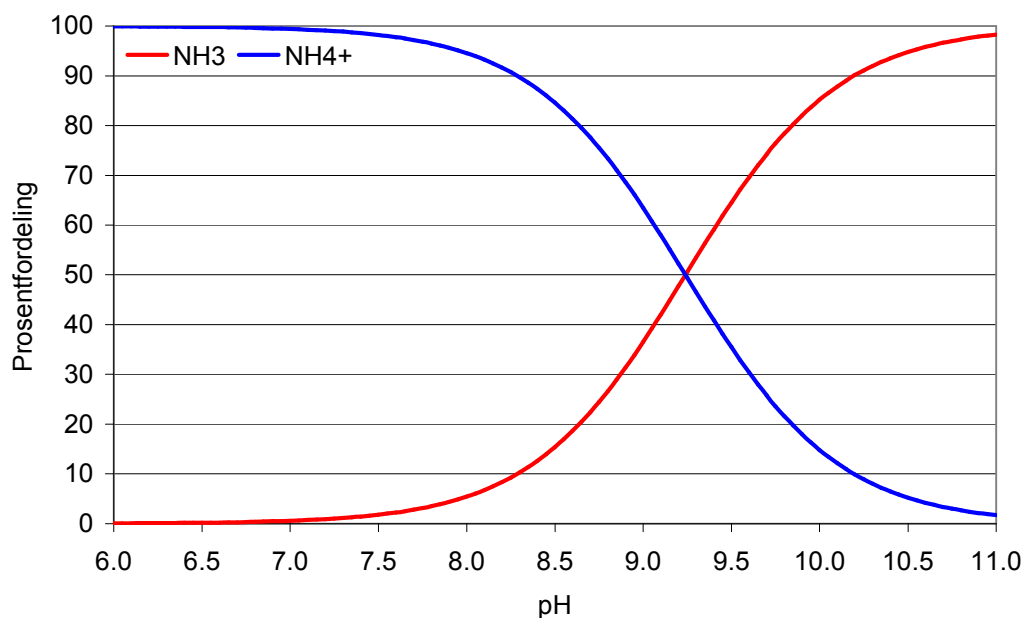
Forutsetning 2 er ikke gyldig i intensiv oppdrett. Det skjer en kontinuerlig utskillelse av CO<sub>2</sub> som pCO<sub>2</sub> fra fisken. Reaksjonshastigheten på overgangen fra CO<sub>2</sub> til HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> er sannsynligvis ikke hurtig nok til å bringe systemet i likevekt (med gjeldende spesifikke vannforbruk). Reaksjonshastigheten er sannsynligvis veldig avhengig av andre faktorer som pH, temperatur med mer, og dermed ikke en faktor som enkelt kan korrigeres. Et intensivt oppdrettssystem er derfor ikke i likevekt, men i en mer eller mindre "steady state" der pCO<sub>2</sub> er høyere enn beregnet verdi viser.

De ovenfornevnte måleusikkerheter kan være en forklaring på delvis sprikende forskningsresultater på effekter av forhøyet CO<sub>2</sub>, og er med på å vanskeliggjøre arbeid med å sette grenseverdier for negative effekter i oppdrett.

Det er derfor ønskelig at metoder som måler pCO<sub>2</sub> direkte, og dermed unngår usikkerhetene rundt beregnede verdier, taes i bruk av både oppdrettere, forskning og forvaltning. Laboratoriebaserede målemetoder finnes (NIVA), og teknologi for utvikling målesonder for bruk i daglig drift er under utvikling

### Ammoniakk / Ammonium

Ammoniakk er det viktigste ekskresjonsprodukt fra nitrogenmetabolismen hos de fleste beinfisker. Ammoniakkforbindelsene finnes på to former, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> og NH<sub>3</sub>. Samlet betegnes disse gjerne som TAN eller totalammonium målt som nitrogen. Fordelingen av formene er avhengig av pH, salinitet og temperatur. Figur 8 illustrerer %-vis fordeling av formene avhengig av pH.



Figur 8 Prosentvis fordeling av de to formene som inngår i total ammonium nitrogen i forhold til pH.

Krav til maksimalt akseptabelt ammoniakk i vann til fisk oppsummeres i tabell 6. Det er usikkerhetsgrader av forskjellig nivå assosiert med alle klassene

Tabell 6 Krav til maksimalinnhold av NH<sub>3</sub> i oppdrettsvann for de ulike oppdrettsartene.

Art	Optimum	Tålbart	Betinget	Ikke akseptabelt
Laksefisk	< 2 µg/l	2–25µg/l	25-70µg/l	70 µg/l
Torsk	Ikke tilgjengelig	60*	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig
Piggvar	Ikke tilgjengelig	100 µg/l	100 - 400 µg/l	> 400µg/l
Kveite	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig
Steinbit	Ikke tilgjengelig	130 µg/l**	Ikke tilgjengelig	Ikke tilgjengelig

\* Foss et al., 2004. Aquaculture

\*\* Foss et al., 2003. Aquaculture



Giftvirkningen av akutt eller sub-akutt ammoniakkeksponering er oppsummert av Knoph, 1996<sup>iii</sup>. Det er funnet en rekke effekter som blant annet inkluderer effekter på plasmakortison og plasmakatekolaminer, respirasjon og sirkulasjon, metabolske faktorer, vann- og ionebalanse, hematologiske faktorer, vevstruktur i gjeller, lever og nyrevev. Den primære giftvirkningen av ammoniakk anses å være at akkumulert ammoniakk forstyrrer den oksidative energi metabolismen og fører til tømning av energi lagre i hjernen (Smart, 1978)<sup>iv</sup>.

Det er gjennomført en lang rekke studier av ammoniakknivå for flere arter og det viser seg at toleranse varierer signifikant mellom arter og med salinitet i vannet. (U.S. EPA, 1985, 1989)<sup>vii</sup>. Laksefisk er blant de artene som tåler minst. Toleransen er vist å være størst ved fysiologisk salinitet (10 ppt) (Alabaster et. al, 1979, 1983).

I forsøk med torskeyngel (3.4g) som gikk i 96 døgn, ble ikke tilveksten redusert når fisken ble utsatt for ikke ionisert ammoniakk med en konsentrasjon som er høyere enn 60µg/l (NOEC-value). Veksten ble signifikant lavere ved verdier på 110 og 170 µg/l, men fortsatt akseptabel tilvekst. Det viser at torsken er relativt tolerant ovenfor ikke ionisert ammoniakk (Foss et al.,2004).

I langtidsforsøk med flekksteinbit (14g) over 69 dager, fant Foss et al.,2003 ingen dødelighet ved 390 µg NH<sub>3</sub>/l, men tilveksten ble kraftig redusert. Ved NH<sub>3</sub> verdier på 130 µg/l ble tilveksten bare svakt redusert. I en tidligere studie på større yngel (95g) (Foss et al.,2002) ble tilveksten redusert ved 170 µg/l, men fisken tilpasset seg de høye ammoniakkverdiene og tilveksten økte i løpet av forsøket. Forsøket viste at fisken kan tilpasse seg variasjoner i ammoniakkinholdet ved økende størrelse på steinbiten.

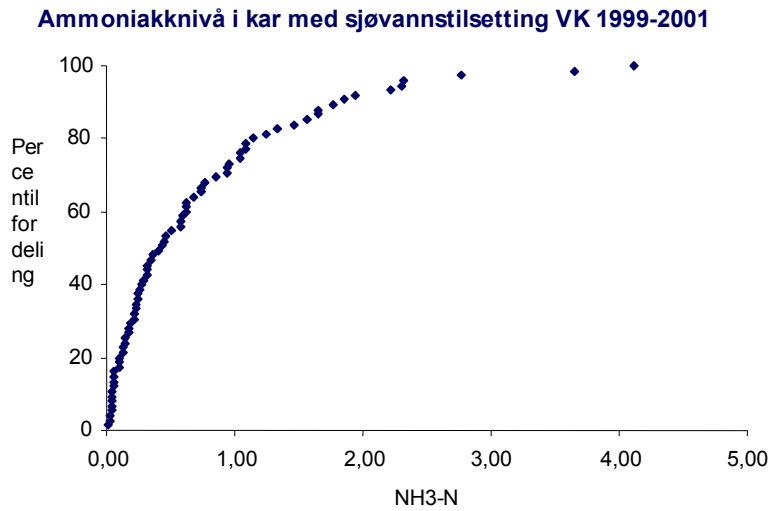
Både NH<sub>4</sub><sup>+</sup> og NH<sub>3</sub> er giftige for fisk, men NH<sub>3</sub> (ammoniakk) er regnet som den giftigste komponenten. Dette skyldes at den er mer permeabel på gjellemembranen. I sjøvann er gjellemembranen minst 10 ganger mer permeabel enn i ferskvann. NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kan derfor ha større betydning for giftigheten oppdrettsfisk i sjøvann (Girard og Payan, 1980).

Giftigheten av TAN synes å avta med økende innhold av CO<sub>2</sub> i vannet opp til et visst nivå (ca 60 mg/l), og dette skyldes at andelen NH<sub>4</sub><sup>+</sup> øker som en konsekvens av fallende pH.

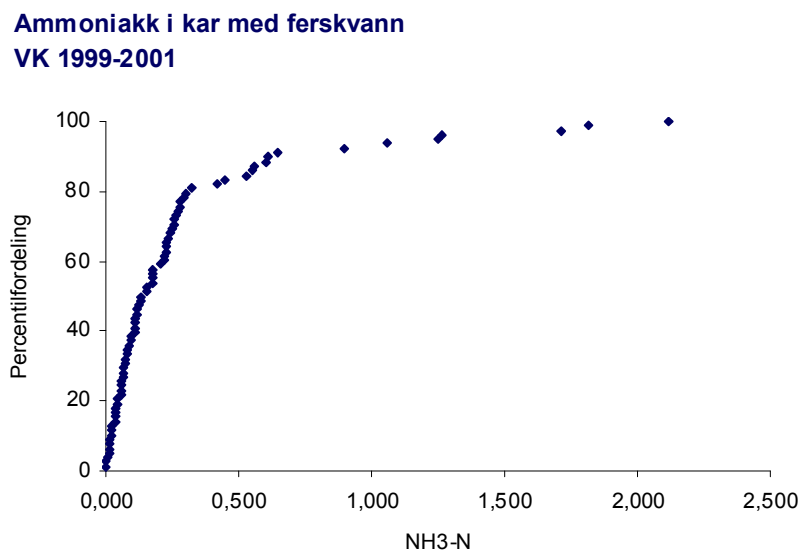
Erfaringer fra praktisk transport tyder på at man ikke skal overskride 5000 µg /l TAN under transport i ferskvann (Rosten, 2000) når dette opptrer samtidig med høy CO<sub>2</sub>-konsentrasjon (> 45 mg/l) og et moderat oksygeninnhold (<70 % metning). Giftigheten av ammoniakkforbindelsene er påvist å øke ved lavere enn 100 % metning (Loyd , 1961, Alabaster et. al 1979, Thurston et. al. 1981, Alabaster et. al 1983).

Ammoniakk er ikke noe stort problem i norsk oppdrettsnæring. Dette skyldes i all hovedsak at vi har basert vårt oppdrett på tilgang på mye friskt vann og at pH i vårt ferskvann er relativt lav. Det finnes likevel unntaksvis anlegg som har høyere kronisk ammoniakkeksponering enn det som anbefales ut i fra en optimalitetsbetraktning. Fra VK 1999-2001 materialet vet vi at gjennomsnittsnivået av TAN i norsk settefisknæring ligger rundt 0,4 – 0,5 mg/l. Nivåene av ammoniakk i norsk

settefisknæring er vist i figuren nedenfor. Dette er ikke spesielt høyt og skyldes at vi nesten utelukkende opererer med gjennomstrømmingsteknologi.



Figur 9 Figuren viser percentilfordelingen av innhold av ammoniakk (NH<sub>3</sub>-N) i µg/l i oppdrettskar med smolt fra 75 norske settefiskanlegg. Anleggene har tilsatt sjøvann som buffer til ferskvannet.



Figur 10 Figuren viser percentilfordelingen av innhold av ammoniakk(NH<sub>3</sub>-N) i oppdrettskar med smolt fra 78 norske settefiskanlegg. Karvannet er kun ferskvann.

De nivå av ammoniakk som er vist å gi dødelighet for laksefisk ligger i området 70 µg til 300 µg/l. Det er imidlertid påvist effekter på gjeller ned mot 10 µg/l.

I VK programmet for oppdrettslaks har vi anbefalt at ammoniakk konsentrasjoner skal ligge under > 2 µg NH<sub>3</sub>/l ved kronisk eksponering for laksefisk (Rosseland 1999). Dette er imidlertid å anse som en optimalitetsbetraktning. Fra VK-undersøkelsene 1999-2001 vet vi at ca 10% av de anleggene som benytter sjøvannstilsetning i smoltproduksjonen og 5% av de anleggene som kun bruker ferskvann i oppdrettet ikke klarer å oppnå denne anbefalingen. Fordelingen av dette ses i figur 9. og 10.

### ***Kort om andre vannkvalitetsparametere***

#### **Hydrogensulfid (H<sub>2</sub>S, HS<sup>-</sup>, S<sup>2-</sup>)**

Sulfid dannes ved reduksjon av sulfat-S ved nedbrytning av organisk stoff i oksygenfritt miljø. Sjøvann inneholder mye sulfat, og risikoen for sulfidproduksjon er derfor stor i stillestående sjøvann. EPA har foreslått en skadegrense på 2 mg/l ved langtidseksponering for udissosiert H<sub>2</sub>S. I vann med lav pH vil giftvirkningen bli større enn i nøytralt vann.

H<sub>2</sub>S har forårsaket høy dødelighet i enkelte settefiskanlegg der sjøvann brukes til nøytralisering og til styring av smoltifisering. Stillestående sjøvann i ledningsnett vil etter kort tid (dager/uker) ”råtne” og utvikle anaerobe forhold med dannelse av H<sub>2</sub>S. Montering av forbiløp og strenge sikkerhetskontroller, der en alltid lar noe sjøvann renne ut, kan forhindre slike problemer.

Forråtnelsesprosessen kan utnyttes som hjelpemiddel for å fjerne begroingsorganismer i sjøvannsledningen: inntaksledningen fylles opp med sjøvann, vannet blir stående en ukes tid og ledningen spyles deretter ren for døde organismer.

#### **Svoveldioksid (SO<sub>2</sub>) og sulfitter**

SO<sub>3</sub><sup>2-</sup> finnes i enkelte industriforurensninger. For laksefisk ligger terskelverdiene mellom 0,5 og 25 mg SO<sub>2</sub>/l avhengig av vannets pH. I det aktuelle pH-området vil svoveldioksid foreligge som hydrogensulfitt (HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>) ved pH-verdier under 5,0 og som sulfitt (SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) ved høyere pH-verdier. Svoveldioksid er giftig både ved at det danner syre og ved at det forbruker vannets oksygen under oksidasjon til svovelsyre.

#### **Klor**

Noen settefiskanlegg som i perioder har for lite driftsvann fra naturlige kilder, kan være tilkoblet kommunalt drikkevann som benytter klorering som kan skade fisken. også andre hendelser kan gi økt mengde klor i vannet som benyttes. Dødeligheten som oppstår i slike sammenhenger, skyldes i hovedsak dannelse av hypoklorsyrling (HClO). Forbindelsen trenger lett gjennom membraner, ødelegger gjelleepitel og bryter ned enzymesystemer, noe som resulterer i ionereguleringssvikt og respirasjonsproblemer. De giftige komponentene dannes ved at klorgass reagerer med vann. Giftigheten er pH-avhengig, idet HClO dominerer i pH-området 4-7, mens

hypokloritt ( $\text{ClO}^-$ ), som er minst giftig, dominerer ved  $\text{pH} > 8$ . Det betyr at giftigheten er størst i ferskvann. I sjøvann vil det lett dannes svært giftige bromider.

Grenseverdien for klor i ferskvann er 0,004 mg  $\text{HClO}/\text{l}$ , mens verdiene i sjøvann ligger på ca 0,06-0,07 mg  $\text{HClO}/\text{l}$ . En grei huskeregel er at når man kan lukte klor av vannet, da er det giftig.

Avgiftning foregår ved avdunstning av klor, noe som krever lengre tid i kaldt vann. Ved nedstrøms klorutslipp i vassdrag vil derfor giftigheten avta med avstand til utslippsstedet. Vann med chelatorer som kan binde klor, f.eks humus, har redusert giftighet. Montering av kullfilter på vannledningen fra kommunalt drikkevann er også en løsning.

### **Kobolt (Co)**

Giftigheten av kobolt er lite kjent, men metallet hører sannsynligvis til de mindre giftige. Det er påvist giftkonsentrasjoner på 5-10 mg/l i bløtt vann. En skadegrense på 1 mg/l er muligens realistisk for norske vanntyper.

### **Nikkel (Ni)**

Nikkel regnes å ha en bakgrunnsverdi på  $< 5 \mu\text{g}/\text{l}$  i norske vannforekomster. Metallet virker akutt giftig i konsentrasjoner fra 1 mg/l og oppover. Langtidseffekten på bl.a klekking og yngelutvikling er imidlertid påvist for konsentrasjoner ned mot 0,05 mg/l. Det er foreslått grenseverdier i området 0,01-0,03 mg/l.

### **Bly (Pb)**

Bly er et svært giftig metall som løses lettest i bløtt vann. Høye konsentrasjoner finnes i typiske gruveområder og som følge av tidligere bruk av bly i bensin. Metallet transporteres over store avstander og akkumuleres i næringskjeden. Bakgrunnsverdiene er  $< 5 \mu\text{g}/\text{l}$ . Skadegrensene for laksefisk er i området 0,005-0,05 mg/l i bløte norske vanntyper.

### **Krom (Cr)**

Kromforbindelser finnes i naturen som forurensning fra verksteder og industriell virksomhet. I vann med  $\text{pH}$  høyere enn 4-5 felles mesteparten av krom-III-saltene ut som kromhydroksid. Grenseverdiene for krom-VI-forbindelser er oppgitt til ca 0,1 mg Cr/l. Noen undersøkelser tyder på at man kan få virkninger ved lavere konsentrasjoner enn dette. I bløte, norske vanntyper ligger skadegrensene muligens et sted mellom 0,01 og 0,1 mg/l, mens bakgrunnsverdiene regnes å være  $< 0,2 \mu\text{g}/\text{l}$ .

### **Mangan (MN)**

Manganinnholdet følger ofte jerninnholdet, og konsentrasjonen kan bli høy i reduserende miljøer, men er ellers sjelden høyere enn 1 mg/l, oftest langt lavere. Bakgrunnsverdier i Norge settes til  $< 20 \mu\text{g}/\text{l}$ , og verdier over 150  $\mu\text{g}/\text{l}$  regnes nå som "meget dårlig" vannkvalitet. Tidligere har oppgitt skadegrense for fisk variert fra 1,5 til over 1.000 mg/l.

### **Sink (Zn)**

Svovelkisgruver og verksteder med elektolytisk forsinking kan gi sinkforurensning. Sink løses også i vann fra bøtter, rør og baljer, desto lettere jo lavere pH-verdien er. Sink er også en av de tungmetallene som øker i giftighet når pH-verdien øker til > 9, og giftvirkningen for laksefisk (regnbueørret) kan tidobles ved å øke pH-verdien fra 5,5 til 9,0. Konsentrasjonen av sink i ikke-forurensede områder er oppgitt til < 5µg/l.

Skadegrensene for sink bør i våre bløte vanntyper antakelig settes til 0,03 mg/l for mer tolerante fiskearter. Ved økende hardhet ligger skadegrensene høyere, og ved en hardhet på 50 mg CaCO<sub>3</sub>/l er de anslått til ca 0,2 mg/l for laksefisk og 0,7 mg/l for mer tolerante arter.

### **Kadmium (Cd)**

Verksteder med elektrolytisk kadmiering og gruveindustri kan gi kadmiumforurensning i resipienter. Metallet hører med til de mest giftige, og skadegrensene for laksefisk ligger i området 0,3-1 µg/l i bløte vanntyper. Bakgrunnsverdier for norske forhold er angitt å være < 0,04 µg/l i uforurensede områder.

### **Kobber (Cu)**

Svovelkisgruver og metallvareindustri kan gi kobberforurensning i resipienter. Kobber løses i vann fra kobberrør, særlig ved lav pH, og en del vil lett felles ut igjen som grønt irr. Metallet er sterkt giftig, og skadegrense for laksefisk er angitt til 1-5 µg/l i bløtt vann, og 5-20 µg/l ved en hardhet på 50 mg CaCO<sub>3</sub>/l. I Norge regnes bakgrunnsverdiene å være < 0,6 µg/l. Oppløst organisk stoff som humus, nedsetter giftigheten.

### **Samvirke**

Tungmetaller som kobber, sink, kadmium, bly, krom og nikkel kan virke annerledes hver for seg enn når de foreligger sammen oppløst i vann. I enkelte tilfeller kan virkningen forsterkes. Giftstoffene kan virke additivt, eller de kan svekke hverandre.

Hvordan virkningene blir, er avhengig av konsentrasjonsforhold, i hvilken form metallene foreligger (organisk/uorganisk), generell vannkvalitet (særlig Ca-konsentrasjonen), osv.

I høye konsentrasjoner, som virker akutt giftig (letalt), har man funnet at kobber og sink som regel har additiv effekt på laksfisk.

### ***Oppsummering***

De mest sentrale parametrene som avgjør dyrevelferd knyttet til vannkvalitet er O<sub>2</sub>, temperatur, salinitet, TAN, CO<sub>2</sub>, surt vann (pH), aluminium, jern.

Metabolismen til fisken er påvirket av en rekke miljømessige og responsrelaterte faktorer som gir seg utslag i et oksygenbehov. Oksygenforbruket avgjør utskillelsetakten av de viktige metabolittene CO<sub>2</sub> og NH<sub>3</sub>. CO<sub>2</sub> vil foreligge som en gass i vannmassen, men denne vil stå i likevekt med bikarbonat og karbonsyre i vannmassen og partialtrykket av CO<sub>2</sub> i omgivelsesluften. Ammoniakk vil foreligge som gass, men vil stå i likevekt med den ioniske formen ammonium. Begge likevektene er avhengig av pH hvor CO<sub>2</sub> gass mengden i vannet øker med fallende pH og NH<sub>3</sub> - gass mengden faller med fallende pH til fordel for den ioniske formen (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). I vannmassen måler vi ammoniakkforbindelsene som total ammonium nitrogen eller TAN og andelen NH<sub>3</sub> må avgjøres ved hjelp av formelverk. Økt CO<sub>2</sub> i oppdrettsvann vil i seg selv medvirke til økt [H<sup>+</sup>] og dermed fallende pH.

Både CO<sub>2</sub> og NH<sub>3</sub> er giftige for fisk, alene og i kombinasjon, men i og med at CO<sub>2</sub> fører til fallende pH vil moderate nivå kunne være med å beskytte mot ammoniakk giftighet. Den ioniske formen av ammoniakk (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) er på langt nær så giftig som gasformen NH<sub>3</sub>. Den beskyttende effekten avtar etter all sannsynlighet når den ioniske formen når et giftig nivå, eller når CO<sub>2</sub> nivået i seg selv har forårsaket for stor respirasjonsmessig- eller syre-basemessig forstyrrelse.

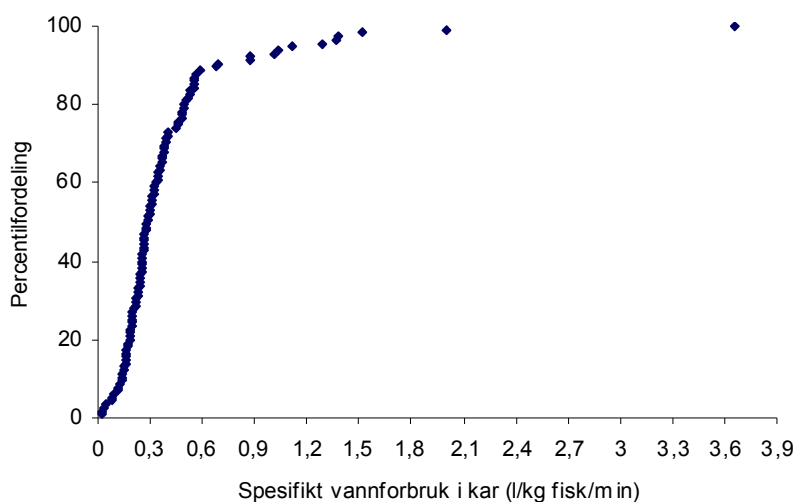
pH er en parameter som modulerer giftigheten av en rekke stoffer. Lav pH er først og fremst et problem knyttet til surt ferskvann og metaller, men det kan også oppstå når CO<sub>2</sub> nivåene i oppdrettsvannet er for høye.

Metallene aluminium og jern har forskjellig tilstandsform og bio-tilgjengelighet avhengig av pH og blandsonekjemi. Tid og temperatur og størrelse på pH-ending avgjør varigheten av blandsonekjemien. Lav pH og forekomst av labilt aluminium er et kjent problem i ferskvannsoppdrett. Mindre kjent og studert er at både aluminium og jern kan bli giftige når man blander metallholdig ferskvann med sjøvann. Giftvirkning av disse metallene skyldes primært deres tendens til å utfelle på fiskegjellene, samt den sekundære konsekvensen av dette med effekter både på vann- og ionebalansen samt oksidative forstyrrelser.

## Sammenheng mellom fisketetthet, vanntilførsel og vannkvalitet

I et forvaltningsøyemed skulle en ønske at det var klare sammenhenger mellom fisketetthet og vannkvalitet. Denne sammenhengen er imidlertid kun tilnærmet gyldig om man har standardisert det spesifikke vannforbruket og den aktuelle utluftingsgrad av CO<sub>2</sub>. Empiriske tall fra VK-undersøkelsene viser at det er vanskelig å finne slike korrelasjoner i praksis. Dette er fordi vanntilførselen vil variere stort. Figur 11, nedenfor illustrerer dette forholdet. Vi ser at vanntilførselen i forhold til biomassen varierer fra 0,02 l/kg/min til over 3,5 l/kg/min.

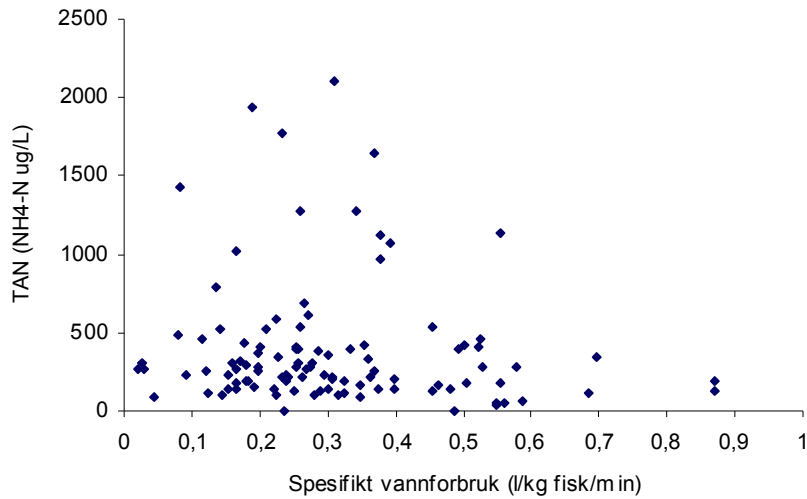
**Spesifikt vannforbruk VK 1999-2001**



Figur 11 Percentilfordeling av spesifikt vannforbruk i norske settefiskanlegg for laks. Data fra 115 norske anlegg.

Om man ser på noen aktuelle karparametre i forhold spesifikt vannforbruk finner man liten entydighet. I figur 12 er TAN-konsentrasjonen i forhold til spesifikt vannforbruk i norske settefiskanlegg for laks og ørret vist. Vi ser at nivåene sprer seg godt utover i noe som kan likne på en normalfordeling med flest verdier mellom 0,15 og 0,4 l/kg/min. Et paradoks er at de høyeste verdiene vi har målt for TAN og CO<sub>2</sub> er under et spesifikt vannforbruk omkring 0,3 l/kg/min.

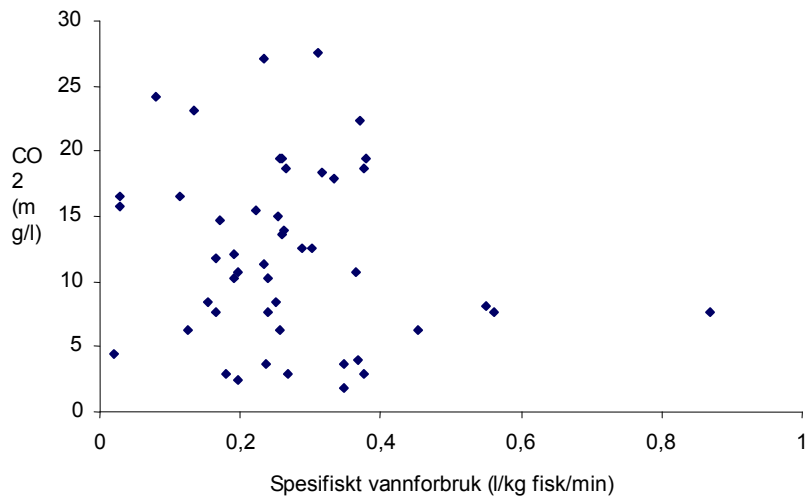
**NH4-N µg/L vs Spesifikt vannforbruk VK 1999-2001**



Figur 12 Viser sammenhengen mellom spesifikt vannforbruk og TAN nivå i oppdrettskar med smolt.

Det samme forholdet viser seg for CO<sub>2</sub> (figur 13). Her er nok vannkvaliteten også influert av at enkelte smoltanlegg (anslagsvis mellom 20 og 40% ) benytter en eller annen form for utlufting av CO<sub>2</sub>.

**CO<sub>2</sub> mg/l vs Spesifikt vannforbruk VK 1999-2001**



Figur 13 Viser sammenhengen mellom spesifikt vannforbruk og CO<sub>2</sub> innhold i oppdrettskar med smolt.

Skulle man ønske å innføre en grense for fisketetthet i forhold til vannkvalitet må man derfor samtidig sette et minste krav til vanntilførselen. Faglig sett har man vist at



vanntilførselen i runde oppdrettskar bør ligge mellom 10-30 liter/m<sup>3</sup>/min for å oppnå god selvrensning (Skybakkmoen mfl). Det kan derfor være operasjonelt forsvarlig å sette et krav til minimum vanntilførsel per oppdrettskar på 10 liter/karvolum/minutt. Om man samtidig setter minimumskrav til spesifikk vanntilførsel på 0,15 liter/kg fisk minutt så vil maksimal tetthet i oppdrettsenheten bli 67 kg/m<sup>3</sup>. Ved åtte grader i vannet og fiskestørrelse på 100g (laks) kan det forventes at CO<sub>2</sub> vil bli liggende rundt 26 mg/l og TAN rundt 1150 µg/l.

Ved doubling av vanntemperaturen til 16 grader vil CO<sub>2</sub> havne rundt 30 mg/l og TAN rundt 1400 µg/l. Om laksen var 10 gram ville man kunne forvente CO<sub>2</sub> verdier opp mot 50 mg/l ved 8 grader og en tetthet på 67 kg/m<sup>3</sup>. Ved 16 grader vil dette kunne øke til over 60 mg/l. Av denne grunn må vanntilførselen øke for mindre fisk for å oppnå fornuftige CO<sub>2</sub>-nivå. Øker vi vanntilførselen til 30 liter/kar volum/minutt og øker kravet til spesifikt vannforbruk til 0,6 liter/kg fisk minutt vil maksimal fisketetthet i karet bli 50 kg/m<sup>3</sup> og CO<sub>2</sub> verdiene vil sannsynlig falle til omkring 15 mg/l.

Konklusjonen av dette er enkel:

1. jo mindre fisk - jo mer vann
2. jo varmere vann - jo mer vann

Skulle man ønske et maksimalt CO<sub>2</sub> nivå på f.eks 15 mg/l må man påregne anslagsmessig reduksjon i fisketettheten til 36 kg/m<sup>3</sup>. Tilsvarende regnestykker kan gjøres for andre fiskestørrelser.

Konklusjonen av dette er at man må gjøre følgende enkle valg om man vil forbedre vannkvaliteten:

1. redusere tetthet, men behold samme vanntilførsel inn
2. redusere tetthet i perioder høye vanntemperaturer

Hvor stor betydning vannutnyttelsen har for produktiviteten illustreres med følgende eksempel. Et gjennomsnittlig norsk settefiskanlegg med en råvannskilde på 15.000 liter per minutt utnytter denne vannkilden til produksjon av kun ettårig smolt av gjennomsnittlig norsk størrelse på 90 gram. Anlegget vil kunne produsere 555' stk smolt om vi satte kravet til forsvarlig vannforsyning på 0,3 liter per kg fisk per minutt. Vanntemperaturen ville sannsynligvis være ca 8 grader i dagene før utsett. Ved et enkelt estimat (som ikke hensyn tar parametre i den lokale vannkvalitet) vil vi kunne forvente et CO<sub>2</sub>-nivå i størrelsesorden 15 mg/l og TAN-nivå omkring 650 µg/l. Reduserte vi kravene til forsvarlig vannmengde til 0,1 liter vann/ kg fisk / minutt ville denne samme oppdretteren kunne produsere 1.666' smolt, men CO<sub>2</sub>-verdiene ville øke til omtrent 38 mg/l og TAN til ca 1700 µg/l. Med utlufting av CO<sub>2</sub> er det dokumentert at man kan oppnå ca 36%. Gitt regnestykket over, ville man således kunne oppnå verdier for CO<sub>2</sub> like under 25 mg/l. TAN-verdiene ville ikke bli påvirket av denne vannbehandlingene.

Flere studier viser unisont for alle de aktuelle artene at liten fisk trenger tilgang på mer oksygen (vann) enn stor fisk grunnet høyere metabolisme per kg kroppsmasse.

Sett i lys av dette er det ikke uventet at man i en brønnbåt som går med åpne ventiler og en vannutskiftning på over 100 l/m<sup>3</sup> brønn/min kan gå med meget høye tettheter av stor fisk uten at det medfører problemer. Vi minner om at normal tetthet ved transport av slaktelaks er mellom 130-180 kg/m<sup>3</sup>. Så lenge man går med åpne ventiler og har tilsvarende høy vannutskiftning i form av fremdrift eller pumper vil CO<sub>2</sub> og ammoniakk ikke kunne akkumuleres til farlige nivå. Ved 100 l vann /m<sup>3</sup> brønn/min og 180 kg fisk/m<sup>3</sup> og strømhastighet på 1 meter/sekund i brønnen, forventes (teoretisk) ikke høyere CO<sub>2</sub> verdier enn ca 5 mg/l og TAN på 240 µg/l. At vannkvaliteten er god i åpne transportsystemer er blant annet vist av Rosten et. al., 2000.

### **Oppsummering**

Krav til fisketetthet i forhold til vannkvalitet har ingen relevans uten samtidig å sette krav til vanntilførsel. Et fornuftig mål på en minimum vanntilførsel er 10 liter/m<sup>3</sup> karvolum/minutt. Hvor stor tetthet av fisk man kan ha på denne vanntilførsel avhenger av vanntemperatur, art og fiskestørrelse.

Er vanntilførselen stor i forhold til biomassen så vil ikke skadelige metabolitter kunne akkumuleres. I en produktivitetsbetraktning vil man på den annen side være ute etter å bruke så lite vann som er dyrevelferdsmessig forsvarlig. De eksisterende anbefalinger i settefiskforskriften for laks på 0,3 l/kg fisk er fornuftige, men drift i området 0,15 liter /kg fisk/ min synes heller ikke problematisk under mange situasjoner i praktisk oppdrett. Av dette vil en forstå at nivåene av CO<sub>2</sub> i norsk settefisknæring ofte ligger langt over forslaget til anbefalt grense for laks.

Skal man ned mot de nivå på CO<sub>2</sub> som antydes fra Europarådet (10 mg/l for laks), så vil dette forutsette en vanntilførsel i størrelsesorden >0,4 liter/kg /min. Et eksakt krav på spesifikk vanntilførsel i denne størrelsesorden ville kunne ramme konkurransekraften i norsk laksenæring kraftig i og med at 50-60% av norske settefiskanlegg bruker mindre vann enn dette per kg biomasse. Paradokset er selvfølgelig at bedre betingelser ville gi bedre appetitt og bedre tilvekst, dvs igjen raskt høyere biomasse. Uansett så tenderer man før eller senere å nå en grense for hva som er mulig å produsere på en gitt vannmengde.

Nyere undersøkelser peker på at det kan være en relativt stor feilkilde i de målinger som er fortatt med tanke på grenseverdier og CO<sub>2</sub>. Mange av de brukte metodene forutsetter at systemet er i likevekt med karbonatsystemet, det er ikke vann i fiskeoppdrett. Det er en viss inkongruens når man i forsøk med tilsatt CO<sub>2</sub> finner at grenseverdiene for effekter på fisken varierer mellom 10 mg/l og 40 mg/l . Samtidig ser man i oppdrett, i et system som ikke er likevekt, ut til leve godt med 10-13 mg/l og et delvis høyere nivå. Det kan stilles faglige spørsmål i forbindelse med analyse og beregning av CO<sub>2</sub> både i kontrollerte forsøk og i næringen. Man kunne derfor ønske å bevege seg bort fra da mange forutsetninger i likevektregnestykkene og heller kunne måle CO<sub>2</sub> nivå som partialtrykk av gassen. En konsekvens av dette er at grenseverdiene for CO<sub>2</sub> bør utarbeides på nytt.

## Hvilke parametere bør overvåkes og på hvilken måte

Sammenhengen mellom vannkvalitetsparametrene i intensive oppdrettsenheter er komplekse. Vi har forsøkt å illustrere noen av disse sammenhengene i et eget flytskjema. Figur 14 viser flytskjemaet, samt noen mulige utfall av ulike kombinasjoner av uheldig vannkvalitet. I flytskjemaet kan man se at parametere som går igjen flere steder vil det være spesielt viktig å ha kontroll på. Disse er oppsummert i tabell 7.

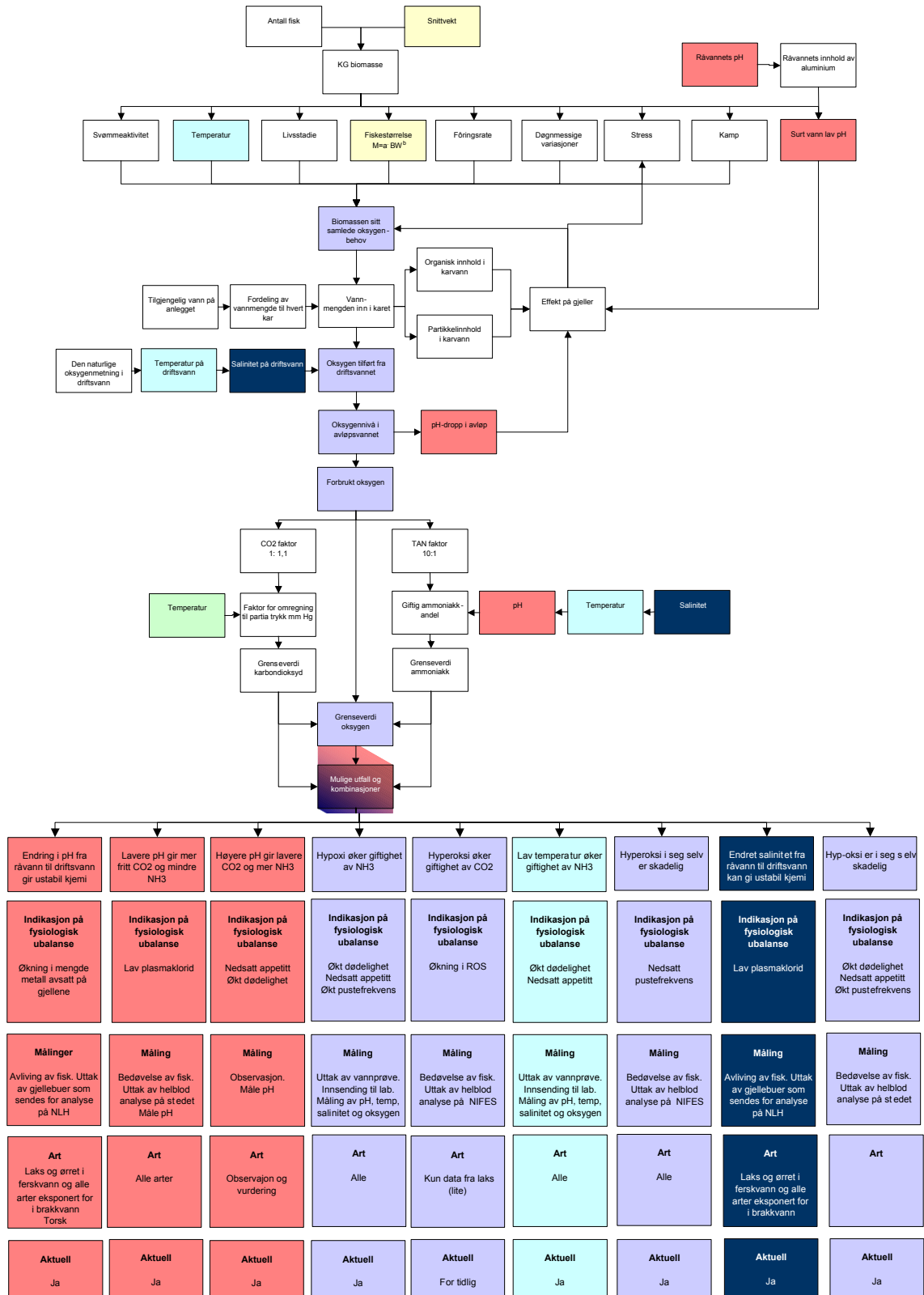
*Tabell 7 Faktorer som oppdretter må overvåke for å kunne følge med om dyrevelferden i forhold til vannkvalitet er god.*

Nr	Parameter	Hvor ofte	Hvordan	Kommentar
1	Biomasse i hver enhet	Daglig	Produksjonsregistreringer	
2	Utføringsprosent	Daglig	Produksjonsregistreringer	
3	Oksygennivå i enheten (helst som oksygen dropp fra innløp til avløp)	Daglig	Instrument	
4	Temperatur på vannet	Daglig	Instrument	
5	pH og salinitet	Daglig ved høy intensitet og eller surt vann	Instrument	Kan være nødvendig å måle daglig ved surt råvann og/eller høy intensitetsgrad
6	Vite hvilke tider på døgnet hvor vannkvaliteten er forventet å være på sitt dårligste	Daglig Tidlig morgen på høsten ved overskyet vær og nedbør er oksygeninnholdet på det laveste	Vite om og inspisere enheter etter: <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Flo og fjæretabeller</li> <li>▪ Måltid</li> <li>▪ Temperatursvingninger</li> </ul>	
7	Vannmengden inn i enheten	Ukentlig kontroll eller ved endringer	Instrument Manuelt Estimat av begroing på not	Minimum 10 liter vann/m <sup>3</sup> karvolum anbefales  Vanngjennomstrømming i merd er vanskelig å måle direkte.
8	Råvannskvalitet	Året rundt, eksempelvis hver 14 dag i 3 år	Årskartlegging ved uttak og innsendelse av prøver til lab  Anbefaler at VK-parametrene benyttes (NIVA) og at DGT-kartlegging av tungmetaller foretas i vannkilden	Gjelder kun landbasert.  Viktig å bli kjent med de naturlige variasjoner i råvannskilden.
9	Kontroll av eksponering for surt vann	Før utsett av settefisk i sjø	Innsendelse av gjelleprøver fra representativ fiskegruppe Analysere <b>gjellemetller</b>	Kan også benyttes som kontroll på eksponering for andre metaller.
10	Kontroll av CO <sub>2</sub>	Ved installasjon av luftpustyr må dokumentasjon kreves  Stikkprøvekontroll med passende mellomrom av enheter i alle livsfasene og/ eller oppdrettsavdelingene og i bedøvelseskar ved stikkvaksinering.	Uttak av vannprøver på gasstette glassflasker, konservering med bio-blokker og innsendelse til akkreditert laboratorium.  Måling av CO <sub>2</sub> som partialtrykk bør kunne utvikles og dette vil muligens oppfattelse av hva som er skadelige nivå.	Forventet maksimaleffekt på CO <sub>2</sub> lufte er opp mot 40%.  Særlig aktuelt i enheter med oksygendropp gjennom enheten på 10 mg/l eller mer.
11	Kontroll av NH <sub>3</sub> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Stikkprøvekontroll med passende mellomrom av enheter i alle livsfasene og/ eller oppdrettsavdelingene og i bedøvelseskar ved stikkvaksinering.	Uttak av vannprøver for innsendelse til akkreditert laboratorium med på stedet måle pH, salinitet og tempertur	Mest aktuelt i intensive landbaserte anlegg (settefisk og matfisk)

Det kan være vanskelig å vurdere om vannkvaliteten er god ved røkting og inspeksjon under den daglig driften av et anlegg. En del sammenhenger er det viktig å være klar over;

1. Jo høyere metabolisme (appetitt, aktivitet, vekst osv) jo mer CO<sub>2</sub> og TAN produseres av fisken. Dette kan med andre ord også være et trivseltegn.

2. Et høyt oksygendropp fra innløp til avløp (eller til le siden av vannstrømmen gjennom merden) skyldes enten at det er;
  - a. ..et lavt spesifikt vannforbruk, dvs mye biomasse i forhold til vanntilførselen.
  - b. ..et ekstrem høyt oksygenforbruk grunnet faktorer som høy spiseaktivitet, frykt, stress eller annen forstyrrelse.
  - c. ..stillestående vann, dvs skift mellom flo og fjære.
  
3. Liten oksygenforskjell (dropp) fra innløp til utløp kan være forårsaket av at
  - a. ..fisken har lav metabolisme, som oftest på grunn av lav vann-temperatur.
  - b. ..fisken har normal eller høy metabolisme, men vanntilførselen er meget stor slik at utskifningstiden i enheten er kort og lite CO<sub>2</sub> eller TAN vil være igjen i enheten.
    - i. Dette er det typiske forholdet ved transport av fisk i brønnbåt med åpne ventiler. Eller i nye nøter med lite(n) fisk.
  - c. ..det tilsettes oksygen via diffusorer direkte i enheten og mengden oksygen er ikke kjent.
  - d. ..oksygenet styres automatisk via sensorer og magnetventiler, samt doseres etter forbruk.
    - i. Om man vil estimere CO<sub>2</sub> og TAN i slike tilfeller må man benytte teoretiske tabeller for oksygenforbruk. For laksefisk har man mulighet er å benytte oksygenforbruksverdier fra Liao 1971.<sup>vii</sup> Man har imidlertid i ettertid funnet at verdiene i praktisk oppdrett kan ligge 1,5-1,6 ganger høyere (Fivelstad et al., 1999)<sup>viii</sup>. Når man kjenner biomassen og vanntilførselen i karet kan mengden relevante metabolitter estimeres.



Figur 14 Illustrasjon av sammenhengen mellom vannkvalitetsparametre i en intensiv oppdrettsenhet. Antar at produksjonsvannet er ferskvann.

### ***Oppsummering***

Den som oppdretter fisk, eller skal kontrollere om oppdrettet av fisk foregår vannkvalitetsmessig forsvarlig, må kunne forstå sammenhengene mellom fisketetthet, metabolisme, vanntilførsel og operasjonelle driftsforhold for å kunne vite når det er behov for analytiske kontrollmålinger. Det er ikke nok å innføre maksimaltak på biomasse (kg/m<sup>3</sup>) som det er gjort for matfisk i sjøen.

Daglig til ukentlig kontroll av 10-12 stk parameter vil kunne gi god kontroll over velferd i en oppdrettsenhet i forhold til vannkvalitet (se tabell 7).

## **Transport og vannkvalitet**

Dette kapittelet beskriver noen av de utfordringene som er knyttet til vannkvalitet ved transport av levende fisk. I dagens oppdrett kan vi skille mellom tre transporttyper; åpen transport, vekselvis åpen og lukket og helt lukket transport.

Vi gjør oppmerksom på at det eksisterende regelverk for transport er det som har størst potensial til å skape dyre-velferdsmessige problemer med vannkvalitet. Det er et paradoks at det er den fisken som skal settes i sjøen, eller er syk, er den som i følge regelverket må utsettes for den dårligste vannkvaliteten. Momentene som er tatt opp her er derfor utelukkende sett ut i fra optimalisering av vannkvalitet i forhold til dyrevelferd og kommenterer ikke regelverket i forhold til smittevern hensyn.

### ***Lite problemer med åpen transport i brønnbåt***

Utfordringer med vannkvalitet ved åpen transport i brønnbåt er knyttet til vannkvaliteteten på det vannet man tar inn i brønnen gjennom brønnventilene og eventuelt via pumper, samt forholdet mellom biomasse og gjennomstrømningskapasitet. Vanligvis er dette aldri noe problem i en moderne brønnbåt. Vanngjennomstrømmingen er som regel 3-4 ganger det som benyttes i settefiskproduksjon (dvs > 100 liter/m<sup>3</sup> brønnvolum/min. I de fleste tilfeller er vanngjennomstrømmingen alene nok til å forsyne fisken med oksygen og fjerne avfallsproduktene fra metabolismen. Unntaket kan være når båten ligger ved kai og må forsyne fisken med vann via pumpesystemer. I visse situasjoner vil det da være nødvendig å løse inn tilleggsoksygen. I fiskevelferdsøyemed er det derfor viktig å følge med oksygennivået i brønnen. Grenseverdi for laks bør ikke underskride 50% metning.

Det er normalt med tettheter på 115-180 kg/m<sup>3</sup> ved åpen slaktelakstransport. Tilpasninger i tetthet gjøres i praksis av brønnbåtskipper, da denne som regel har lang erfaring i å bedømme tilstanden på fisken. Det er et stort empirisk materiale viser at slike tettheter fungerer godt i praksis. Problemer oppstår når det av smittemessige hensyn er påkrevd å gå med lukkede brønnventiler, eller ved transport av smolt ved lange perioder med lukkede ventiler. Disse utfordringene er omtalt under utfordringer med lukket transport.

Ved frakt av settefisk anbefales en tetthet på 35-50 kg/m<sup>3</sup> når frakten i hovedsak foregår med åpne ventiler. Det vil normalt sett ikke kunne akkumuleres karbondioksyd eller ammoniakk til farlige nivå under de betingelser som er beskrevet over. Dette støttes av studier utført av Rosten et al, 2000 hvor det er vist at CO<sub>2</sub>-nivå i brønnbåter med åpne ventiler i sjøvann kan ligge under 2 mg/l. Tilvarende lave verdier er funnet for TAN (< 30 mg/l i åpen transport. En kan legge merke til at brønnbåtneringen således har tilpasset seg fiskens fysiologi ved å tilby liten fisk med høy metabolisme mer vannutskiftning per kg biomasse enn det som er nødvendig for stor fisk med lavere metabolisme.

Et forhold man skal være klar over er risikoen for å få inn kjemikalier fra utslipp fra båter og slakteri når man går med åpent system. Når akutt dødelighet oppstår i et åpent system er dette ofte årsaken. Skal man avsløre dette må man raskt ta vannprøver, og ta opp død /døende fisk for obduksjon. I tillegg kan man komme i

skade for å skape en uheldig blandsoneskjemi om man kjører igjennom et surt ferskvannslag i en fjord, eller laster inn surt ferskvann sammen med smolten i en brønn fylt med sjøvann. Når man i en transport kommer i skade for å blande to vannpakker med ulik pH, ulik ionestyrke, salinitet og ulikt innhold av organiske stoffer, så oppstår en ustabil vannkjemi fra blandingsøyeblikket og noe tid utover. Klassisk er problemene som er forklart tidligere med surt ferskvann i blanding med sjøvann hvor aluminium mobiliseres og blir bio-tilgjengelig og slår seg på gjellene på fisken. VK-undersøkelsene til KPMG, NIVA og NLH har visst at det samme også kan være tilfelle med jern. Her er problemet knyttet til blanding av brunt humusholdig vann og sjøvann, med påslag av jern på gjellene som konsekvens.

### ***Lukket transport er problematisk***

Vannkvaliteten i en lukket transport er bestemt av fiskens metabolisme. Den øker som nevnt tidligere med temperatur, stressnivå, minkende fiskestørrelse, økende svømmehastighet og økende fordøyelse. Det er spesielt fire stoffer vi er spesielt opptatt av. Disse er: Oksygen (O<sub>2</sub>), Karbondioksyd (CO<sub>2</sub>), ammoniakkforbindelsene (NH<sub>4</sub> og NH<sub>3</sub>) heretter kalt TAN og Total organisk karbon (TOC). Som tidligere nevnt kan man sies at karbondioksyd står i et 1:1 forhold med oksygen, mens TAN står i et 10:1 forhold. I praksis bygger derfor CO<sub>2</sub>-nivået seg langt raskere opp enn TAN. Når CO<sub>2</sub> akkumuleres i vannet frigjøres H<sup>+</sup> og pH i vannet vil synke. pH vil synke mer i en transport som foregår med ferskvann i brønnen/tanken enn i en transport som foregår med sjøvann i brønnen/tanken. Dette fordi sjøvannet har en større bufferkapasitet for CO<sub>2</sub>.

For transport av laksefisk i lukket system anbefaler vi ikke at CO<sub>2</sub> kommer over 60 mg/l når TAN og TOC er høye. Dette er tall som er fremkommet empirisk (Rosten, 2000). Tilsvarende tall fra transport av laksefisk i sjøvann finnes ikke, men praktisk erfaring fra Skottland med transport av slaktelaks i spesialbygd brønnbåt (lukket system med kjølt sjøvann), er positive. Erfaringen viser at slaktelaks kan transporteres i et begrenset antall timer (8-10 t), uten dødelighet eller forringelse av kjøttkvalitet oppstår (Halsebakk, R. pers. med.). Næringsaktørene har her vært dyktige i sin bruk av kunnskap om fiskefysiologi og forstått at om vannkvaliteten skal forbedres i et lukket transportsystem, så må metabolismen ned (dvs. man må senke vanntemperaturen). Slike operasjoner er likevel uansett å anse som risikofylte. Faremomentet oppstår om man må ta inn friskt sjøvann med høyere pH i brønnen. Akutt ammoniakkdødelighet kan da oppstå. Man må derfor forutsette at lossing må foregå i et lukket system og uten ny vanntilførsel. For en brønnbåt vil dette kunne bety bruk av skyveskott og at vann fra lossingen må returneres til brønnen.

Selv om CO<sub>2</sub> kan akkumuleres til svært høye nivå (> 50 mg/l) så er det NH<sub>3</sub> som representerer den største faren dyrevernmessig i en lukket transport. Det viktigste man kan gjøre for å holde ammoniakkkonsentrasjonen lav er å holde pH under 6,5. Dette vil ofte skje av seg selv etter 1-2 timer lukket transport i sjøvann pga akkumulering av CO<sub>2</sub>. Å åpne opp ventilene og ta inn friskt sjøvann med pH 8,2 vil ofte representere en stor fare for akutt ammoniakkforgiftning. Grunnen til dette er at det vil oppstå blandsoner mellom nytt og gammelt vann i brønnen hvor ammonium kan gå over til ammoniakk. Inntak av frisk vann kan være fatalt dersom utskiftningen ikke skjer raskt



nok eller TAN-konsentrasjonen i forkant hadde blitt for høy (les: lang transporttid, høy metabolisme, høy tetthet).

Giftvirkningen av ammoniakk kan delvis motvirkes ved å holde oksygenmetningen høy. Dette vil være en slags kunstig kuvøse tilstand hvor risikoen er høy for at sjøvannstoleransen blir påvirket. Dette skyldes at blant annet at høye oksygen konsentrasjoner kan påføre skader på kloridcellene på gjellene. Det klassiske eksemplet på dette er ferskvannstransport av smolt i bil/båt uten kontroll av oksygenmetningen. Om transporten er lang og ammoniakknivåene potensielt høye, vil man kunne la seg friste til å øke oksygenivåene svært høyt. Man vil da kunne oppleve at ingen av fisken dør under selve transporten, men dør i løpet av 24-48 timer etter at fisken er satt i sjø. Sannsynligheten er da stor for at dette er en transportskade.

Et annet forhold som kompliserer transporter i lukket system er at avfallstoffer som slim og feces fra fisken akkumuleres i transportvannet. Dette ses som økning i TOC mg/l. Det er grunn til å tro at dette organiske stoffet kan legge seg på gjellene og virke forstyrrende på respirasjonen. I undersøkelser gjort av lukket transport på laks har man observert 10-dobling av TOC konsentrasjonene.

Vurderingene ovenfor er fremkommet etter at Rosten, et al i 2000 kartla vannkvaliteten i 16 smolttransporter. I tillegg støtter vi oss her på data samlet inn om transportbetingelser for smolt gjennom VK-programmene for settefisknæringen. I tillegg har en dokumentert virkninger av hyperoksi på blodparametre og kjøttkvalitet for laks transportert i lukket system med ekstreme biomasser (>250 kg/m<sup>3</sup>) (Erikson et al 1999).

I en studie av en 32-timers lukket ørrettransport (snittvekt 360 gram) fra Danmark til Frankrike (Rosten, 2001)<sup>ix</sup> ble det beregnet at fisken hadde vært utsatt for mellom 4,5-10 µg NH<sub>3</sub>-N/liter, og 150 – 400 mg/l CO<sub>2</sub>. Transporten hadde vannskifte etter 8 timer og nivåene av ammoniakk og karbondioksyd bygde seg opp før og etter denne vannskiftetasjonen. Tettheten i transportenheten var 187,5 kg/m<sup>3</sup>. Vannet var overmettet med oksygen (>100 % metning), og man hadde ingen kontroll av det øvre nivå. Vannkvaliteten på råvannet før transport og ved vannskifte ble estimert til en alkalinitet 0,8 mmol/l og en pH på 7,1. Utluftingseffekten på CO<sub>2</sub> pga oksygenbobling var antatt å ligge mellom 12-36%. Vanntemperaturen lå mellom 8-13 grader °C. Ingen fisk døde under selve transporten. Ved utpumping til merd ble panikkreaksjon observert. Dette utartet seg som overflatejaging (typisk panikkreaksjon hos laksefisk). Etter 48 timer i sjøvann var 66% av fisken død. Ved nærmere gjennomgang av denne transporten ble det konkludert at årsaken til dødelighet var transportskade og man antar at fisken har vært utsatt for en kraftig syre-base forstyrrelse induert av hypercapnia (høy CO<sub>2</sub>) i kombinasjon med oksidativt stress med potensielle negative effekter på kloridceller og andre oksidative stress effekter. Eventuelt giftighet av ammoniakk under transporten antas å blitt motvirket av den høye oksygenkonsentrasjonen.

Dette viser at eventuelle transportskader oppdages gjerne ikke før timer og dager etter at transporten er avsluttet. Praktisk erfaring tyder på problemer med dødelighet er størst der fisken skal settes i sjøvann etter transporten.

### ***Eksempler på krav til tetthet og maksimal transportlengde i lukket system ved simulering av vannkvalitet***

Å kunne gi veiledende råd om hvilke tettheter og transporttider som er sikre i en lukket transport ut i fra hensyn til dyrevelferd er imidlertid særdeles utfordrende. Dette skyldes at de forhold som fisken utsettes for i en kommersiell transport vanskelig kan studeres under kontrollerte vitenskapelige forsøk (for dyrt), samt at sammenhengene er komplekse og til dels lite studert. Få vitenskapelige holdbare vannkvalitets data fra kommersielle transportere er publisert, man må derfor støtte seg på målinger foretatt i samarbeid med kommersielle aktører og simuleringer.

I en studie gjennomført av Rosten et. al i 2001<sup>x</sup> ble det utarbeidet beregninger for hvor stor tetthet og hvor lang transportlengde man kunne operere i en lukket transport i forhold til tre risikonivå på vannkvalitet. Beregningene er helt teoretiske og anbefales fulgt opp med tilsvarende dokumentasjonsforsøk. I denne studien delte man vannkvaliteten inn i tre risiko nivå; med nivå 1 som den laveste risiko og nivå 3 som den høyeste risiko. I simuleringen så man på følgende transporttyper: liten lakseyngel (1-2g), smolt (70g) og, torskeyngel (70g). Grenseverdier for CO<sub>2</sub>, TAN og NH<sub>3</sub> som ble anvendt i denne studien er angitt i tabell 8.

*Tabell 8 Grenseverdier benyttet for å beregne maksimal transportlengde i lukket system under tre risikonivå.*

Parameter	Risiko nivå 1	Risiko nivå 2	Risiko nivå 3
CO <sub>2</sub> mg/l	20	40	60
TAN mg/l	2	4	5
NH <sub>3</sub> µg/l	0,5	1	2

Ut i fra simulering med avansert modell utviklet av Grøttum, 1998, ble grenser for maksimal transportlengde i lukket system funnet for tre aktuelle transporttemperaturer (oksygenforbruk) og tre aktuelle fisketettheter. Resultatene for de ulike transporttypene med de tre risikonivå er angitt i tabellene 9 og 10.

## Utredning av vannkvalitet relatert til dyrevelferd

Tabell 9 Maksimal anbefalt tid i lukket system med ferskvann for 1-2g lakseyngel med ulike tettheter i transportenheten. Antatt oksygenforbruk i forhold til temperatur er oppgitt i parentes.

Transporttype	25 kg/m <sup>3</sup>	50 kg/m <sup>3</sup>	75 kg/m <sup>3</sup>
1-2g lakseyngel i ferskvann med lav bufferkapasitet (pH 6,0 og Alk 0,04 mmol/l)	Maksimaltider i lukket system.	Maksimaltider i lukket system.	Maksimaltider i lukket system.
2°C (5 mg O <sub>2</sub> /kg/min)	1. 3,7 time 2. 8,0 timer 3. 10,0 timer	1 1,7 time 2. 4,0 timer 3. 5,0 timer	1 1,1 time 2. 3,0 timer 3. 3,0 timer
10°C (14 mg O <sub>2</sub> /kg/min)	1. 1,0 time 2. 3,0 timer 3. 3,0 timer	1. 0,4 time 2. 1,3 timer 3. 1,7 timer	1. 0,3 time 2. 0,9 timer 3. 0,8 timer
15°C (19 mg O <sub>2</sub> /kg/min)	1. 0,4 time 2. 1,0 timer 3. 2,0 timer	1. 0,1 time 2. 0,7 timer 3. 1,2 timer	1. 0,1 time 2. 0,4 timer 3. 0,6 timer

Tabell 10 Maksimal anbefalt tid i lukket system med ferskvann for 70 g laksesmolt med ulike tettheter transportenheten. Antatt oksygenforbruk i forhold til temp. er oppgitt i parentes.

Transporttype	25 kg/m <sup>3</sup>	50 kg/m <sup>3</sup>	75 kg/m <sup>3</sup>
70g laksesmolt i ferskvann med lav bufferkapasitet (pH 6,0 og Alk 0,04 mmol/l)	Maksimaltider i lukket system.	Maksimaltider i lukket system.	Maksimaltider i lukket system.
2°C (2 mg O <sub>2</sub> /kg/min)	1. 5,5 time 2. 16,0 time 3. 25,0 timer	1 2,7 time 2. 8,0 timer 3. 12,0 timer	1 1,7 time 2. 5,0 timer 3. 8,0 timer
10°C (5 mg O <sub>2</sub> /kg/min)	1. 2,6 time 2. 7,0 timer 3. 10 timer	1. 1,2 time 2. 3,0 timer 3. 5,0 timer	1. 0,8 time 2. 2,1 timer 3. 3,0 timer
15°C (8 mg O <sub>2</sub> /kg/min)	1. 1,7 time 2. 3,8 timer 3. 6,0 timer	1. 0,6 time 2. 1,6 timer 3. 2,8 timer	1. 0,2 time 2. 0,9 timer 3. 1,8 timer

*Tabell 11 Maksimal anbefalt tid i lukket system med sjøvann for 70 g torskøyngel med ulike tettheter i transportenheten. Antatt oksygenforbruk i forhold til temperatur er oppgitt i parentes.*

Transporttype	50 kg/m <sup>3</sup>	75 kg/m <sup>3</sup>	100 kg/m <sup>3</sup>
70g torskøyngel i sjøvann	Maksimaltider i lukket system.	Maksimaltider i lukket system.	Maksimaltider i lukket system.
10°C (4 mg O <sub>2</sub> /kg/min)	1. 2,2 time 2. 4,8 time 3. 6,0 timer	1 1,5 time 2. 3,3 timer 3. 4,2 timer	1 1,0 time 2. 2,2 timer 3. 2,8 timer

### **Oppsummering**

Transport av fisk på åpent system i brønnbåt trenger ikke være dyrevelferdsmessig utfordrende i forhold til vannkvalitet. Unntaket er om man passerer belter med blandsongiftighet eller får kjemikalier inn i brønnen. Lukket transport kan være nødvendig ut i fra smittevernmessige forhold, men er langt mer problematisk i forhold til dyrevelferd og vannkvalitet.

Utredning viser at transport av fisk i lukkede systemer uten vannutskiftning er meget vanskelig og er sterkt tidsbegrenset i forhold til temperatur og/eller fiskens oksygenforbruk.

Den faktoren som påvirker vannkvaliteten i det lukkede transportsystemet mest, er fiskens egen metabolisme. Skal man forbedre dyrevelferden i lukkede transporter må man iverksette tiltak for å senke metabolismen ( vha endringer i biomasse, temperatur, vannstrøm) i oppbevaringstanken, men samtidig akseptere at risikoen for at akutt dødelighet er større.

Oksygenforbruk hos alle de aktuelle artene under ulike oppdrettsprosesser er dessverre lite studert slik at simulering av vannkvalitet i transport er usikker. Det er vanskelig å sette eksakte grenser for maksimale transportlengder i et lukket system. Erfaring fra næringen antyder et mulighetsområde innenfor 2-8 timer avhengig av fiskens tilstand, tetthet i transportenheten og teknisk utstyr på transportenheten.

Særdeles viktig med god kontroll av oksygenmetning i transportenheten. For høyt oksygennivå (indikasjon >120%) vil kunne gi gjelleskader og oksidativt stress som gir seg utslag i dødelighet etter transport. Viktig å unngå store svingninger. På den annen siden vil lav oksygenmetning (< 70%) øke giftigheten for ammoniakk. Anbefalingene for lukket transport bør være å ligge så nær 100% metning som mulig.

## Vannkvalitet i matfiskoppdrett

Dyrevelferd i matfiskanlegg er blant annet studert av Havforskningsinstituttet og Norges landbrukshøyskole gjennom deres strategiske instituttprogram "Velferd hos oppdrettsfisk 2001 –2005". De har blant annet etablert et merdmiljølaboratorium hvor man har mulighet til å studere både adferd og miljø for oppdrettsfisk i sjø. Resultatene fra de ulike studiene som er utført i denne merdmodellen viser at det er stor variasjon og dynamikk i hvordan både individ og grupper fisk beveger seg i merden. Målinger utført i 2002 viste at det kan være veldig store variasjoner i temperatur i en fjordmerd og at dette får direkte konsekvenser for hvor fisken stiller seg. Ved høye sjøtemperaturer (og sannsynligvis lavere oksygenverdier) søker laksen mot de lag i vannsøylen som har lavest i temperatur. I en studie utført på torsk (80-200g) av Shurman og Steffensen, 1992<sup>xi</sup> ser man det samme bildet. Torsken søker mot lavere temperatur når oksygenmetningen i omgivelsene faller.

Man skal være klar over at enkelte fjordområder, og på visse årstider, kan oksygenforholdene variere kraftig. De vanskeligste forholdene opptrer på høsten når temperaturen i overflaten er høy, samtidig med høy biomasse i sjøen. Tidlig på morgenen i gråvær eller regnvær kan oksygeninnholdet synke til så lave verdier at fisken blir negativt påvirket. I løpet av høsten øker temperaturen i dypvannet, og derved reduseres vannets oksygeninnhold.

I de fleste fjorder vil det på høsten og vinteren skje "upwelling" av dypvann, når kaldt og saltrikt vann trenger inn i de dypere vannlag. Da vil ovenforliggende vannmasser med varmerer vann skyves opp i overflaten og skape endrede miljøbetingelser.

Vannet har ofte lavere oksygeninnhold og en høyere temperatur enn overflatevannet. I dype terskelfjorder med dårlig utskifting kan vannet være oksygenfritt og inneholde H<sub>2</sub>S. Det er derfor viktig å regelmessig overvåke oksygenforholdene i og utenfor merdene, samt å gjøre ser godt kjent på den lokaliteten man disponerer for å tilpasse seg mulige dramatiske miljøendringer.

I studiene på laks i merdmodellen har man visst at tettheten i de ulike vannlagene kunne komme opp mot 100 kg/m<sup>3</sup> selv om den totale fisketettheten i merden ikke var høyere en 25 kg/m<sup>3</sup> (Havforskningsinstituttet, 2003). Dette vil også påvirkes av eventuell strømindusert deformasjon av nota. Den faktiske vannkvalitet som fisken opplever når den står tett i slike lag i merden er ikke kjent, men teoretisk vil denne avgjøres på samme måte som for fisk i et oppdrettskar på land. Det er således virkningen av biomassens totale metabolisme som må balanseres ut i forhold til vannutskiftningen gjennom notveggen. Denne vil som kjent variere mye med begroing på nøtene, maskevidde og strømforhold. I tillegg til oksygeninnhold og temperatur vil også lysbruk i merdene kunne påvirke hvor tett oppdrettslaksen går.

Denne atferden til laks og torsk kunne vil ha en viss relevans for vannkvalitet og dyrevernsproblemer når miljøforholdene i merden medfører at fisken søker til bestemte lag i vannsøylen. Problemstillingen vil blant annet kunne være;

- a) Hvilken vannkvalitet vil fisken i de lagene med størst fisketetthet oppleve?
- b) Hva med fisken som ikke får plass i det prefererte temperatursiktet/ oksygenstettheten – hvilken vannkvalitet opplever denne? Bedre eller dårligere, begge muligheter er for så vidt åpne avhengig av de lokale forhold.

Dette er spørsmål som er lite undersøkt, men rent teoretisk har oppdrettslaks mer plass i en oppdrettsmerd enn i et settefiskkar på land. Fisken har derfor en større frihetsgrad til bevege seg i vannsøylen for å oppnå en preferert vannkvalitet i forhold til oksygen og temperatur.

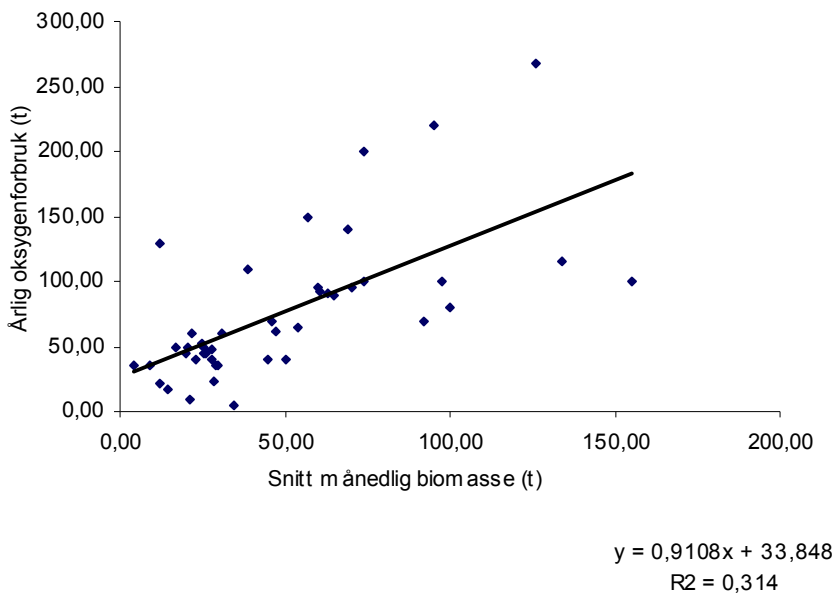
Fra den tidligere teoretiske utledningen vet man at CO<sub>2</sub>, og muligens TAN, kan bli et problem når man tilsetter oksygen i overskudd (>100%) i inntaksvannet og øker biomasseutnyttelsen. Normalt vil man ikke kunne komme opp i høye CO<sub>2</sub> verdier når inntaksvannet ikke er overmettet med oksygen. I sjøen vil vannet normalt sett holde en metning på omkring 100% før det driver inn i oppdrettsmerden. Det er imidlertid kjent at algeaktivitet periodevis kan medføre svingninger i oksygen- og karbondioksyd konsentrasjonen utover de normale metningsforhold. Oksygenverdiene inne i merden er som nevnt avhengig av oksygenforbruket til biomassen. Man vil derfor med stor grad av sikkerhet få et godt bilde på vannkvaliteten ved å registrere oksygen inne i merden, da det er denne parameteren som også først vil være begrensende. Oksygen er i teorien relativt greit å måle, men enhetene er store og ideelt sett skulle man kunne ønske en kobling mellom målepunkt og hvor biomassen beveger seg i vannsøylen. Minimum oksygennivå for laks regnes for å være 50% metning. Praktisk erfaring indikerer likevel at fisken vokser bedre når oksygen metningen ligger mellom 80-100% metning. Dette synes også å være bekreftet fra registreringer i stor merd (Asbjørn Bergheim, pers.med).

Oksygenmangel i en oppdrettsmerd kan motvirkes ved tilsats av oksygen og/ eller bruk av strømsettere. Forsøk utført av Rogalandsforskning ved Ewos Innovation for selskapet OxSea Vision AS kan tyde på at oksygentilsetting i merd gjør at laksen vokser bedre. I denne studien som pågikk over 2-3 mnd oppnådde fisken 10% større slaktevekt med samme fôrmengde. Dette er hentet fra selskapet egen hjemmeside.

Det finnes teknologi tilgjengelig som overvåker og dokumenterer oksygenforhold i oppdrettsmerder. Slike systemer kan og bygges for kunne starte oksygenering direkte i merd eller igangsette oppstart av strømsettere på grunnlag av lave oksygenverdier. Oxygard Commander systemet som leveres Sterner FishTec AS er eksempler på et slikt system.

Oksygenering i oppdrettsmerd i sjøen reiser likevel noen prinsipielle og etiske spørsmål. Det er mulighet for at systemet kan brukes for å øke fisketettheten/m<sup>3</sup> oppdrettsvolum, slik vi ser det anvendt på settefiskanlegg og landbaserte anlegg. Figur 15 på neste side viser hvordan norske settefiskanlegg klarer å øke sin gjennomsnittlige mengde stående biomasse ved å bruke mer tilsats av flytende oksygen i produksjonsvannet. I sjøen vil også dette rent operasjonelt nå være mulig. Hvor grensen går dyreetisk før andre konsekvenser av høy tetthet (sosialt stress, smittepress etc) slår inn, er lite studert i store merdssystemer hvor oksygen ikke er en minimumsfaktor. Sannsynligheten er imidlertid stor for at det eksisterer muligheter for å øke tettheten av fisk i sjø noe ved hjelp av tilleggsoksygenering og god vannutskiftning via (ren) notvegg. Dette utnyttes imidlertid ikke fordi 25 kg fisk/m<sup>3</sup> merdvolum på fortsatt gjelder som begrensning på lokalitetsnivå. Om myndighetene skulle fravike dette prinsipp, så ville man på en eller annen tetthet og vannutskiftningsnivå, oppleve at CO<sub>2</sub> og ammoniakk vil bli de begrensende faktorene i vannkvaliteten.

### Snitt mnd biomasse vs årlig O2 forbruk



Figur 15 Figuren viser den gjennomsnittlige stående biomassen fra 43 norske settefiskanlegg korrelert med det årlige forbruket av flytende oksygen.

Uansett så representerer en teknologisk utvikling en mulighet for å sikre at oksygeninnholdet i merdene opprettholdes på nivå som er operasjonelt og dyrevennmessig forsvarlig. Teknologien åpner nok også for en viss grad av produksjonsøkning på samme merdvolum. Kanskje så mye som 60% i enkelte tilfeller. Dette er i seg selv interessant både forvaltningsmessig og økonomisk. Når teknologien tas i bruk av våre lakseproduserende konkurrenter i Chile vil man kunne forvente at de vil kunne øke produktiviteten per investert kr i produksjonsfasilitet i sjøen. Det som eventuelt skulle kunne tale i mot dette er andre biologiske forhold som kan oppstå pga stor fisketetthet.

### Oppsummering

Krav til vannkvalitet i matfiskanlegg ivaretas best ved å stille krav til fisketetthet, vanngjennomstrømming i noten (liten begroing) og opprettholdelse av not-geometri. Det er imidlertid vanskeligere å modellere vannkvaliteten i sjøen enn i et kar på land, da vanntilførselen gjennom noten avhenger av så mange faktorer. Måling av oksygenivå utenfor og i merden, samt på lesiden av merden vil likevel gi god indikasjon på vannkvaliteten i merden. Målingene må da helst foretas på de dyp biomassen befinner seg.

Fisk i merdsystemer har en større grad av bevegelsesfrihet enn fisk i landbaserte anlegg, men vil samtidig kunne utsettes for større miljøsvingninger i på grunn av lokale hydrografiske forhold.

Sannsynligheten for at man i mange tilfeller kan oppnå positive optimaliseringsgevinster ved å tilsette oksygen og eller strømsette merder er stor. Samtidig kan dette

bli en sovepute mot det som er det aller viktigste, nemlig å holde nøter rene slik at tilstrekkelig vannutskiftning kan opprettholdes. Kombinasjonen rene nøter, god strøm og oksygentilsetting kan muliggjøre at fisketettheten kan økes utover 25 kg/m<sup>3</sup>. Dette har størst relevans for laksefisk.

Den vitenskapelige kunnskapen om hyperoksi i kombinasjon med hypercapnia er i sin spede begynnelse. Det er derfor vanskelig å gi noen eksakte anbefalinger på hvilke kombinasjoner av oksygen, CO<sub>2</sub>, TAN som bør benyttes i matfiskanlegg. Dette er heller ikke undersøkt i store merdsystemer. Inntil videre bør man avvente nærmere resultater fra pågående vitenskapelige undersøkelser på laks før man åpner opp for økt biomasse per m<sup>3</sup> merdvolum i sjø. For de andre aktuelle artene trengs nærmere studier.

I et rent historisk lys kan vi minne om at vi per i dag ikke har et eneste landbasert matfiskanlegg for laks. Oppdrett i merd i sjø har vunnet frem som den mest hensiktsmessige teknologien for stor laks og torsk. Det gjenstår å se hvordan dette blir for kveite og steinbit. Sannsynligheten er stor for at en merdfase i sjø må innføres for de siste fasen av matfiskproduksjonen. Studier av atferd i kombinasjon med vannkvalitet kan gi verdifull informasjon om trivsels- og velferdsindikatorer.



## **Mer om de marine artenes krav til vannkvalitet**

De prinsipper som tidligere er bredt omtalt gjelder i høyeste grad også for de marine artene. Dette kapitlet omtaler summarisk noen momenter som er relevant for krav til vannkvalitet for artene piggvar, torsk, kveite, steinbit. Den kommersielle utviklingen av landbasert oppdrett av piggvar er forholdsvis suksessfull og har man kommet lengst i erfaring for denne marine arten. Mye av det vi vet om krav til vannkvalitet på torsk kommer fra studier på villtorsk i forbindelse med habitatbetraktninger, men også en del knyttet til forsøk for å løse problemene med dødelighet på tidlig yngelstadiet i oppdrett. Det samme gjelder for kveite. Felles for de marine artene er at mikrobiell vannkvalitet i larve- og tidlig yngelfase synes å ha stor betydning for overlevelse og vekst. Den probiotiske effekten på tarm fra mikrobielt vannmiljø og senere alger er svært viktig for utvikling av tarmflora og overlevelse av yngelen. For larver er det viktig å forstå at de mikrobielle utfordringene ikke dreier seg om fiskepatogene bakterier, men om å oppnå en positiv effekt på fordøyelsessystemet av gunstig bakteriefloora i vannmiljøet. Dette er oppgaven til modning av vannet, som er et begrep innen marin yngelproduksjon. Kontroll og styring med resirkuleringsteknologi for opprettholdelse og poding av gunstig mikrobiell flora er viktige operasjonelle utfordringer innen fiskehelse for de marine fiskelarvene. Dette gjelder generelt og ikke bare for kveite (Winther et. al, 2003)<sup>xii</sup>

I de senere årene har det vært utført en del studier som vi har funnet å kunne ha relevans for tema vannkvalitet og dyrevelferd. Det er til dels vanskelig å trekke klare konklusjoner ut i fra disse studiene. Dette blant annet fordi forsøksbetingelsene primært sett ikke har vært å gi svar på de vannkjemiske utfordringene fisken vil møte i en oppdrettssammenheng, dvs kombinasjoner av vannkvalitetsparametre. Få av undersøkelsen har vært vinklet mot vannkvalitet og dyrevelferd.

### **Kveite**

I studier utført av Havforskningsinstituttet har man vist at både vekst og grad av svømmeaktivitet i oppdrettsvolumet er avhengig av dekningsgraden på bunnen. Overflatesvømming nesten vertikalt med hodet over vannet er en typisk adferd som ses hos kveite i oppdrettsanlegg. Det er ikke bare svak fisk som har denne adferden slik tidligere antatt, men de kveite som hyppigst utfører denne aktiviteten viser lavere vekst enn gjennomsnittet. Høy grad av ”duppe-aktivitet” i oppdrettsanlegg for kveite indikerer at noe er galt i karet eller i merden (Havforskningsinstituttet, 2003).

Atferd og fôrinntak og grad av misstrivsel varierte stort fra individ til individ og dette blir tolket som at enkelt fisk har forskjellig lynne og dermed mer eller mindre permanente strategier for å mestre oppdrettssituasjonen. Sammenhengene mellom tetthet målt som arealdekning av bunnen i kar eller not og misstrivsel kan være det forhold at kveite synes å foretrekke forholdsvis lange perioder (5-10 timer) med hvile i løpet av døgnet. De ligger urørlige i disse periodene, men når det er høy grad av bunndekning dvs mangel på areal, vil fisken til stadig bli forstyrret og muligens frarøvet disse periodene (Havforskningsinstituttet, 2003). Det er rimelig grunn til å tro at tegn på misstrivsel hos kveite har mer med disse forhold å gjøre enn det som kan

relateres direkte til vannkvalitet. Et unntak er her muligens nitrogenovermetning. Dette er omtalt tidligere.

Fisketetthet hos flatfisk måles ofte som kg/m<sup>2</sup>. Som eksempel kan nevnes at 18, 43, 63 og 95 kg/m<sup>2</sup> tilsvarer henholdsvis 50, 100, 160, 215% areal dekning av bunnen (for kveite mellom 2-3 kg). Effekt av disse tetthetene i forhold til vekstrate har blitt undersøkt av Björnson, 1994. Konklusjonene fra denne studien harmonerer godt med funnene på atferdsstudier fra Havforskningsinstituttet, nemlig at tetthet påvirker kun tilvekst over 100% dekning av bunnareal. Konklusjonen til Björnson var at optimal tetthet ligger mellom 25-50 kg/m<sup>2</sup> for en 2 kg kveite og mellom 50-100 kg/m<sup>2</sup> for en kveite på 10 kg. Det eneste vi vet om vannkvaliteten i Björnsons eksperiment var at oksygenverdiene lå på 6 mg/l, saliniteten på 31 ppt og vanntemperaturen var stabil på 7 grader. Oksygenforbruket lå på mellom 0,37 – 0,87 mg / kg/ min.

Siden flatfisk ligger stille på bunnen ofte i flere lag er det viktig å måle vannkvalitet i det laget fisken befinner seg. Økt svømmeaktivitet i store kar med tettheter kan og ha sammenheng med behov for å oppsøke bedre vannkvalitet høyere i vannsøylen. Dette bør man ta hensyn ved tilførsel av friskt vann og ved måling av vannkvalitetsparametere.

Oksygenforbruk og TAN ekskresjon hos kveiteyngel (16-32g) har blitt undersøkt av Imsland et al, 2000<sup>xiii</sup>. Ved 8 grader ble det funnet et oksygenforbruk på 2,35 – 2,49 mg/kg/min med tilsvarende TAN ekskresjon på 0,9-0,12 mg/kg/min. Ved 12 grader var oksygenforbruket økt til mellom 3,08 - 3,26 mg/kg/min og TAN ekskresjonen til mellom 0,16-0,20 mg/l og ved 15 grader var oksygenforbruket mellom 3,58 - 3,93 mg/kg/min og TAN produksjonen lå mellom på 0,22 mg/kg/min. Gjennomsnittallene for slik liten yngel ble funnet å være et oksygenforbruk på 3,35 mg/kg/min og en TAN ekskresjon på 0,178 mg/kg/min. Den daglige fôringsraten lå på 1,26%.

Om vi tenker oss 100' kveiteyngel av 25 gram (2500 kg) satt inn i et oppdrettskar med et oppdrettsvolum på 100m<sup>3</sup>. en vanntilførsel på 0,1 liter/m<sup>3</sup>/min (dvs 1000 liter sjø/minutt). Ved 12 graders vann kunne en forvente å få TAN verdier i karet på ca 1600-1700 µg/l. Likeledes ville en kunne forvente CO<sub>2</sub> verdier rundt 30-40 mg/l . Om dette hadde vært lakseparr på 25 gram ville man sannsynligvis kunne finne verdier i for CO<sub>2</sub> i størrelsesorden > 60mg/l og TAN verdier i størrelsesorden 2800 µg/l. Vi ser av dette eksemplet at ved samme fiskestørrelse, temperatur, biomasse og vannkvalitet vil laksen generere nesten 60% dårligere vannkvalitet med tanke på CO<sub>2</sub> og TAN enn kveita.

Det er kjent at fisk har temperaturoptimum for vekst og overlevelse. Denne kan forandre seg med alder og kroppsstørrelse. Studier av Jonassen et al 1999<sup>xiv</sup> viser at veksteraten for kveiteyngel i størrelsen 5-70g har et optimum mellom 12 og 15 grader celcius. I denne studien var optimumstemperaturen for vekst 16 grader for en 5 grams fisk (3,2% /dag), men denne avtok fort med økende kroppsstørrelse. Dette forhold må det må tas hensyn til ved vannkvalitetsbetraktninger i forhold til livsfase. Høyere vekst betyr høyere metabolisme og økt utskillelse av CO<sub>2</sub> og ammoniakk.

### **Piggvar**

Piggvar har blitt oppdrettet kommersielt i Spania i tetthet på 68 kg/m<sup>2</sup> uten signifikant reduksjon i vekstrate.

Følsomhet for akutt ammoniakkgiftighet er blitt studert komparativt for seabass, seabream og piggvar av Person-Le Ruyet, J 1995<sup>xv</sup>. Denne studien konkluderte med en 96H LC50's på 2500-2600 µg/l NH<sub>3</sub>-N ved 57 –59 mg/l TAN konsentrasjon for begge artene seabream og piggvar. Seabass var mer følsom og lå på en 96H LC 50 på 1700 µg/l NH<sub>3</sub>-N ved 40 mg/l TAN. For sultet fisk kan plasmanivå av ammoniakk være en god indikator på ammoniakkgiftighet. Plasmanivå øker ved økende ammoniakk i oppdrett / transportvannet. LC50 oppstår etter 4 dager eksponering for ammoniakk når plasmanivået har økt 4 ganger fra utgangspunktet for seabass og 10 ganger for utgangspunktet for piggvar og seabream. 96H LC 50s for regnbueørret er funnet å være 820 µg/l NH<sub>3</sub>-N. Vekst vil derimot opphøre for piggvar ved ammoniakkkonsentrasjoner mellom 400-1000 µg/l NH<sub>3</sub>-N.

Plasma ammoniakk kan måles ved kit f.eks Sigma 170 UV metode eller ved hjelp av en ISTAT (Torstein Kristens, NIVA pers.med) . Ved bruk av Li<sup>+</sup> heparin og lagring på isbad er ammoniakk nivåene i plasma stabil i 3 timer Person-Le Ruyet, J 1995<sup>xvi</sup>. Dette kan ha interesse i eventuelle velfredsmessige studier.

### **Torsk**

Det er få data tilgjengelig som viser sammenhenger mellom tetthet, vannkvalitet og trivsel hos torsk i oppdrett. Studier av Lambert, Y. og Dutil, J.D 2001<sup>xvii</sup> på villfanget torsk på rundt halvkiloen demonstrerte god vekst og trivsel opp til 30-40 kg/m<sup>3</sup> under følgende betingelser 16,7 liter vann per m<sup>3</sup> oppdrettsvolum, 10 grader celcius, oksygen 74-100%, salinitet 28 ppt, utskifting av hele vannvolumet hver 5-6 time. I merd uten tilleggsoksygenering har man funnet at tettheter opp mot 20 kg/m<sup>3</sup> ikke reduserer tilveksten. Sannsynligheten for at dette i praksis er forholdsvis likt laksfisk er derfor stor, selv om det kan være andre grunner til vekstreduksjon enn den tetthetsinduserte sub-optimale vannkvalitet.

Oksygennivå i oppdrettssystemene vil imidlertid påvirke vekstraten. Det er vist i studier av Chabout and Dutil 1999<sup>xviii</sup> at veksten avtar signifikant for oppdrettstorsk under kronisk eksponering for oksygenmetning i vannet under 56%. Vi er ikke kjent med forsøk som dokumentere eventuelle sammenhenger mellom oksygennivå i oppdrettsmerder med tettheter over 20 kg/m<sup>3</sup> og tilvekst. Dette kan også påvirkes av andre tetthetsavhengige parametere som sosial interaksjon, utvikling hierarki, territoriell adferd (Li and Brocksen, 1977<sup>xix</sup>; Jobling, 1985<sup>xx</sup>), samt stressresponser.

Flere studier har vist at torsk av ulike størrelser kan tolerere saliniteter ned til 7ppt uten store problemer. Toleransegrenser målt som LC50% til torskelarver fra klekking til plommesekkstadiet for temperatur og salinitet synes og å være ganske stor. Studier av Yin og Blaxter 1987<sup>xxi</sup> viste at torskelarver kunne tolerere saliniteter ned mot 2-3 ppt og temperaturer opp mot 15,5-18 grader celcius. Torskelarver har positiv oppdrift ved klekking, men får stadig mindre oppdrift og vil ved enden av plommesekkfasen ha en synkerate på 0,06-0,07 cm/sek.

Det er vanskelig å finne gode nøkkeltall på vannkvalitetskrav i forbindelse med marin yngelproduksjon. Bruk av alger for å lage grønt vann har vært vanlig i de første larvefasene. Overlevelsen av fiskelarver rapporteres å variere mer i grønt vann enn når det benyttes klart vann, men generelt har man oppnådd høyere overlevelse i grønt enn i klart vann. Det synes tydelig at i denne vanntypen ikke er karakterisert godt nok vannkjemisk og at man derfor ikke kan sette klare kriterier til hvordan vannkvaliteten skal være i disse systemene.

I marin yngelproduksjon er det og en motsetning rundt det å opprettholde så hyppig vannutskifting som mulig og samtidig unngå store tap av byttedyr (rotatorier og artemia) for fiskelarvene. Det er vanskelig å sette noen klare krav til akseptabel tetthet av fiskelarver i forhold til karvolum, da man fortsatt må betrakte dette som til å være i en utviklingsfase. Operasjonelle anbefalinger til vannutskifting, ved f.eks 40 torskelarver per liter, ligger i størrelsesorden 2 til 5 ganger per døgn etter overføring fra inkubator, med gradvis økende vannutskifting etter som fisken vokser. Vi kan ikke se at de operative nivå av CO<sub>2</sub> og TAN har blitt gjort til et tema i forbindelse med disse anbefalingene. I tidlig yngelfase, dvs størrelser mellom 12- 50mm, anbefales vannutskifting av karvolumet på opp til 20 ganger per døgn. Sammenlignet med det som er omtalt tidligere som hydraulisk kapasitet, nærmer dette seg 15 liter/m<sup>3</sup> karvolum/minutt, dvs sammenlignbart med laks.

En interessant studium av høy CO<sub>2</sub> (hypercapnia) og kobber er utført av Larsen et. al, 1997<sup>xxii</sup>. I denne studien ble torsk på 200-500 g eksponert for 7,5 mmHg CO<sub>2</sub> og 0,4 mg/l kobber i 35ppt sjøvann ved 12 grader. Når torsken kun ble utsatt for hypercapnia på 7,5 mmHg så kompenserte den denne innen 12-24 timer ved hjelp av økning i ekstracellulær bikarbonat [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] på bekostning av nedgang i plasma [Cl<sup>-</sup>]. Eksponering for kobber alene i vann med normalt CO<sub>2</sub> nivå fremprovoserte en stor ionemessig forstyrrelse med økning i plasma [Na<sup>+</sup>] og plasma [Cl<sup>-</sup>]. Ekstracellulær pH var nedsatt med 0,3 pH enheter i 72 timer både ved kobber og hypercapnia eksponering. Eksponering av torsk for kobber i vann med forhøyet CO<sub>2</sub> gav imidlertid mindre ione- og syrebaseforstyrrelser enn eksponering for kobber alene. Studien viste også at intracellulær pH raskt ble kompensert i hjerte og skjelleltmuskel, men syre-base kompensasjonen i lever tok lenger tid. Kobberkonsentrasjonen økte dramatisk i gjellevev etter 3 timer eksponering, muskel og levervev etter 48 timer eksponering. I VK-undersøkelsen har vi målt Cu<sup>2+</sup> verdier i ferskvann opp mot 23 µg/l i settefiskanlegg for laks. Eventuelle samvirkning av Cu<sup>2+</sup> og CO<sub>2</sub> på såpass lave verdier er oss bekjent ikke studert i Norge.

### **Steinbit**

Med steinbit mener vi i denne rapporten flekksteinbit. Flekksteinbiten har blitt fremstilt som en forholdsvis robust fisk sammenlignet med de øvrige marinfiskene. Selv om arten er ny i oppdrett og har relativt liten forsknings- og utviklingshistorie har man kommet forholdsvis langt i å oppnå god overlevelse, vekst og trivsel.

Flekksteinbiten er en typisk kaldtvannsfisk og ser derfor ut til å foretrekke forholdsvis lave sjøtemperaturer. Artens antatte krav til temperturmiljø i naturen er 3-5 grader celsius. Liten yngel responderer bra på økt vanntemperatur, men dødeligheten ser ut

til å øke når vanntemperaturen passerer 12 °C (Steinbitnettverket, 2001)<sup>xxiii</sup>. Følgende temperaturområder er anbefalt ved oppdrett av steinbit;

*Tabell 12 Anbefalte temperaturområder for ulike livsstadier for steinbit.*

Livsstadie	Anbefalt temperatur
Stamfisk	3-5 °C
Egg	4-6 °C
Startfôring	10-8 °C
Vekstfôring	8-5 °C

Studier på effekt av tetthet i matfiskoppdrett er foretatt av Akvaplan-niva i samarbeid med Tomma Steinbit viser at den tåler forholdsvis store tettheter. Dette er en art som tenderer å klumpe seg sammen i "hauger". Dette blir tolket som en sosial positiv adferd og ikke som en fryktspons. Det er ikke funnet forskjeller i tilvekst i oppdrettssituasjon ved lave (25 kg/m<sup>3</sup>) og høye (40 kg/m<sup>3</sup>) tettheter.

Steinbiten ser ut til å trenge tid til å tilpasse seg nye omgivelser. En studie utført av Fiskeriforskning impliserer at liten steinbit (200g) kan trenge inntil 30 dager på å tilpasse seg nye omgivelser etter overføring fra kar til merd.. Man vil derfor kunne forvente en periode med nedsatt vekst ved overføring fra landbasert oppdrett i kar til sjøbasert oppdrett i merd. Man antar imidlertid at oppdrett av flekksteinbit vil skje på land i store deler av livsløpet. Intensivt oppdrett gir ofte høyere driftskostnader enn oppdrett i merd, og dette gjør at det blir sterkt fokus på kostnadselementer i hele produksjonsprosessen. I de tekniske løsningene man har sett på til nå, vil steinbitoppdrett forutsette at sjøvann av stabil lav temperatur hentes fra stort dyp. Dette vil gi relativt høye kostnader på vannkilden og være en drivkraft til økt intensiveringsgrad (slik vi erfarte det med laks da landbasert oppdrett ble forsøkt utviklet på 80-90 tallet).

I NFH-prosjektet "Flekksteinbit i oppdrett – fokus på vannkvalitet" (NFR 134066/120) har Norges Fiskerihøgskole begynt å kartlegge artens spesifikke krav til vannkvalitet, og å definere de optimale betingelsene for maksimal vekst og forutnyttelse. I kontrollerte forsøk har de undersøkt artens respons til lavt (hypoksi) og høyt (hyperoksi) oksygeninnhold i vannet. Videre er det undersøkt effekter av karbondioksid og ammoniakk, redusert salinitet, samt samspillet mellom oksygen og ammoniakk. Resultatene fra de innledende studier på dette feltet antyder at flekksteinbiten er relativt tolerant overfor endringer i vannkvaliteten, med god vekst selv i sjøvann med saltinnhold ned mot 12 ‰. Toleransegrenser for oksygen (høyt og lavt), karbondioksid og ammoniakk ligger langt over det man har observert hos f.eks. laks og torsk (Falk-Petersen, 2003)<sup>xxiv</sup>. Endelige grenseverdier er imidlertid ikke fastlagt.

Siden de innledende studier tyder på at arten tåler forholdsvis høy intensitetsgrad vil steinbitoppdrett kunne utvikles mot drift med lite vann med overmettet med oksygen. Eventuelle problemstillinger knyttet til oksidativt stress vil nok være relevante i så måte (se kapittel om problemstillinger ved bruk av oksygen).

## Problemstillinger ved bruk av oksygentilførsel

Intensiv landbasert akvakultur med begrensede ferskvannsressurser eller store pumpekostnader for sjøvann krever ekstra tilførsel av oksygen for å kunne opprettholde en høy biomasse og produksjon. Oksygen tilføres via innløsningsystemer på inntaksvann eller karnivå, eller via diffusorer i karene. Hyperoksi ( $O_2$  konsentrasjoner over 100 % metning) vil kunne forekomme som en bevist driftsstrategi eller som et resultat av utilstrekkelig justering av oksygentilsetning (doseringsteknisk eller driftsmessig). I tillegg vil hyperoksi kunne forekomme som en bieffekt av ozonbehandling. I intensive oppdrettssystemer med lavt spesifikt vannforbruk vil man få forhøyede nivåer av metabolittene  $CO_2$  og ammoniakk/ammonium (målt som TAN, total ammonium nitrogen). Negative effekter av disse vil opptre sammen med effekter av ren hyperoksi, og samlet gi en effekt på fiskens helse og vekst. Effekten av lave oksygenmetninger (hypoxi) er langt mer studert og dokumentert enn hyperoksi. Det finnes likevel en del studier på hyperoksi på ulike arter i akvakultur, og selv om disse ikke er entydige er det likevel en god del informasjon tilgjengelig som både forvaltning og industri bør kunne dra nytte av. Det er for øyeblikket relativt stor forskningsinnsats på området i Norge, både i regi av Norges Forskningsråd (NFR) og Fiskeri og Havbruksnæringens Forskningsfond (FHF). Nye resultater som kan belyse problemstillingene videre kan derfor ventes fremover.

### *Oksygen i vann*

Oksygenkonsentrasjon oppgis tradisjonelt i mg/l, mens partialtrykk oppgis i mmHg. Det er viktig å skille mellom disse to måtene å oppgi et eksponeringsnivå på, da løseligheten ( $MO_2$ , mg/l) av oksygen i vann avtar med økende salinitet og temperatur, mens partialtrykket ( $PO_2$ , mmHg) er avhengig kun av andel (%) oksygen av atmosfæren vannet er i likevekt med, samt det totale atmosfæretrykket. I denne gjennomgangen oppgis % metning, da dette er det mest brukte målet på oksygenmetning. Alle henvisninger til resultater fra forsøk vil inneholde opplysninger om temperatur og salinitet på formen (T °C, S ‰).

### *Oksygen og fisk*

Forskjeller i temperatur og salinitet er ikke bare viktige for oksygenets fysiske løselighet. Fiskens metabolisme, og dermed oksygenbehov, øker med en faktor på 2-3 pr 10 grader. Oksygenbehovet vil også (i mindre grad) variere med salinitet. Fysiologisk vil temperatur også i stor grad påvirke hvor effektivt enzymatiske og andre forsvarsmekanismer fungerer. Salinitet vil kunne være avgjørende for effekten av forstyrrelser i syre-base balansen og ionebalansen (se neste avsnitt).

Akvatiske organsimer regulerer partialtrykk av oksygen ( $pO_2$ ) i blod og vev til et lavt nivå, formodentlig for å minimere produksjonen av reaktive oksygen forbindelser (ROS), som vil øke ved høyere  $pO_2$  (Massabuau 2003). Regulering av oksygenopptak hos fisk skjer primært ved å regulere pustefrekvens (VF), diffusjonsavstand (GDD) over gjellen og total respiratorisk overflate (RSA). I tillegg reguleres også hemoglobinkonsentrasjon (Fandrey et al 1994) og hemoglobinets oksygenaffinitet.

Ved hyperoksi vil fisk regulere ned ventilasjonsfrekvens og ventilasjonsvolum (Wood and Jackson 1980), samt over tid nedregulere RSA (Saroglia et al. 2000, 2002) for å kontrollere oksygenopptaket. Reduksjonen i ventilasjon og aktivt gjelleareal fører til en opphopning av CO<sub>2</sub> og formodentlig også NH<sub>3</sub> i blod og vev. Samtidig vil også ionereguleringen av monovalente ioner (Na, K, Cl) som skjer i gjellen kunne påvirkes. CO<sub>2</sub>-oppnopning vil føre til en midlertidig reduksjon i blodets pH, som kompenseres med økt opptak av bikarbonat (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) som bufrer blodets pH tilbake (og ofte høyere) i løpet av 24-48 timer. HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> nivået i blodet vil deretter være forhøyet så lenge fisken er eksponert for hyperoksi (Wood and Jackson 1980). En spesifikk reduksjon i plasmaklorid observeres vanligvis som følge av økt HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> konsentrasjon, mest trolig en aktiv regulering for å opprettholde en ønsket balanse mellom positive og negative elektrolytter (Ceccini og Caputo 2003, Bæverfjord et al. 2004).

To negative effekter av hyperoksi på fisk kan formuleres:

- 1) Økt dannelse av ROS som følge av økt pO<sub>2</sub>, med påfølgende skade på en rekke biologisk viktige molekyler.
- 2) Forstyrrelser i syre-base balanse og ioneregulering som følge av ventilatorisk tilpasning til hyperoksi.

Reaktive oksygenforbindelser (ROS) dannes ved delvis reduksjon av oksygen ved enkeltelektronoverføringer (Kelly et al. 1998). ROS er meget reaktive forbindelser som vil reagere med, og ødelegge, viktige biologiske molekyler som DNA, RNA, enzymer og fettsyrer. ROS dannes naturlig i kroppen, og det benyttes en rekke enzymesystemer og antioksydanter for å uskadeliggjøre disse forbindelsene. Dersom organismen utsettes for økt ROS-dannelse som følge av miljøgifter (tungmetaller, PAH mm.) eller økt pO<sub>2</sub>, vil kroppens forsvarssystemer mobiliseres. Økt skade som følge av ROS vil oppstå når forsvarssystemene ikke er i stand til å avgifte den økte ROS produksjonen. Negative effekter av hyperoksi kan derfor måles på ulike nivåer og med ulik alvorlighetsgrad for organismen:

- Fysiologiske/morfologiske/adferdsmessige tilpasninger for å unngå økt pO<sub>2</sub> i blod og vev
- Mobilisering av kroppens forsvarssystemer (enzymaktivitet mm.)
- Skade på biologiske molekyler (DNA skader, fettsyreoksidasjon mm.)
- Reduksjon i prestasjon (overlevelse, vekst, forutnyttelse, sykdomsresistens, ionereguleringskapasitet)

De mer generelle parametre som vekst, overlevelse og sykdomsresistens vil inkorporere alle negative effekter av hyperoksi i sin respons, og dermed inkludere negative effekter av endret syre-base balanse og ionereguleringskapasitet. Spesifikke parametre som enzymaktivitet og oksidativ skade på biologiske molekyler vil gi informasjon om økt ROS dannelse har forekommet, eller om mobilisering av kroppens forsvarssystemer har gitt tilstrekkelig beskyttelse.

Evne til å unngå og/eller motstå skade som en direkte (ROS-indusert skade) og/eller indirekte (syre-base balanse, ioneregulering) effekt av hyperoksi er avhengig av eksponeringsgrad, fysisk-kjemiske forhold som temperatur og ionestyrke, kombinasjon med andre stressorer, samt den enkelte fiskearts biologi.

### ***Effekter av hyperoksi på forskjellige arter***

Vitenskapelig dokumenterte effekter av hyperoksi på ulike arter relevante for oppdrett er gjengitt. Ulike forsøk kan variere mye i design og forsøksbetingelser ellers, så direkte sammenligning kan være problematisk. Viktige forhold som kan antas å gi opphav til forskjellige resultater er forsøk summert senere i kapitlet. Hver art behandles separat. En samlet oppsummering er forsøkt gitt.

#### **Atlantisk laks**

Akutt dødelighet er dokumentert på 280% (Lygren et al. 2000, 5-8 °C, 1-2‰) ved en ukes eksponering. Det samme forsøk viste oksidativ skade (fettsyreoksidasjon og nedsatt enzymaktivitet) ved 140-150 % metning over 12 uker. Brauner et al. (2000) fikk dødelighet ved 96 timers eksponering for ca 300 % metning (10°C, ferskvann). Dødeligheten var størst i kombinasjon med høy CO<sub>2</sub>.

Oksidativ skade er påvist ved 140-150 % metning av Lygren et al., 2000, og Olsvik et al., 2004 påviste mobilisering av enzymatiske forsvarsmekanismer ved samme eksponeringsnivå (7-10°C, ferskvann) Endring i antioksidantkonsentrasjon i blod (T. Kristensen, upubliserte data) er målt i samme forsøk.

Lygren et al, 2000 rapporterte om ingen signifikant vekstreduksjon ved hyperoksi. Redusert vekst ved langtidseksponering (ca 4 mnd) for 130-140 % (7-10 grader, ferskvann) er rapportert (Bæverfjord et al. 2004), sammenlignet med fisk eksponert for 105% med samme CO<sub>2</sub> kons, og kontrollgruppe med normal O<sub>2</sub> og CO<sub>2</sub>.

Langtidseksponering for 140 % metning ga økt mottakelighet for IPN-smitte i en eksperimentell smittemodell (10 °C, ferskvann) (Toften et al., 2004). Samme forsøk ga også utbrudd av sopp på eksponert gruppe. Den samme observasjonen er gjort i et annet forsøk med kortere eksponeringstid (F. Kroglund, pers. medd., 180 % metning, ca 10 °C, ferskvann).

Redusert prestasjon i sjøvannstester (24 t) er vist på fisk eksponert for 180 %, ca 10 °C, ferskvann i 1-2 uker (Finstad et al, upubliserte data). Dette forsøket viste også økt mottakelighet for lakselus etter overføring til sjø. Også 130 % metning med samme forsøksdesign ga negativ effekt i sjøvannstest. (Kroglund et al, upubliserte data). Brauner et al. 2000 fikk redusert overlevelse i sjøvannstest på kortidseksponert fisk (96 timer, 300%). Brauner 1999, viste at eksponering for 360% metning i 6 timer eller mer (11°C , ferskvann) ga redusert prestasjon og overlevelse hos coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*).



### **Regnbueørret**

Data på akutt dødelighet og effekter på sjøvannstoleranse mangler for regnbueørret.

Korttidseksponering (4 timer) for >300 % metning (15 °C, ferskvann) er vist å påvirke antioksidant-systemer (Ritola et al., 2002).

Ingen forsøk rapporterer om redusert vekst som følge av hyperoksi eksponering (Edsall og Smith 1990, Caldwell og Hinshaw 1994). Et nylig publisert arbeid viser en signifikant økt vekst i hyperoksi-eksponert fisk (18 uker, 180 %, 20 °C, ferskvann) (Dabrowski et al., 2004).

Caldwell og Hinshaw (1995) viste redusert toleranse for en *Yersina ruckeri* "challenge test" hos fisk eksponert for 150 % metning i ti uker (18°C, ferskvann). Fisk eksponert for 140 % metning i ti uker viste også endrede fysiologiske responser til en stress test som simulerte transport (Caldwell og Hinshaw 1994).

### **Andre arter**

Flekksteinbit er ikke vist å ha negative responser (vekst) på hyperoksi (150 % metning, 8 °C, 34 ‰), og det blir konkludert med at hyperoksi kan ha en positiv effekt ved å motvirke ammonium/ammoniakk toksisitet (Foss et al., 2003).

Person-Le Ruyet et al., 2002 rapporterer at vekst og en rekke fysiologiske parametre hos piggvar ikke påvirkes av hyperoksi (147 og 223 % metning, 17 °C, 34 ‰).

Torsk kan ha lavere grense for akutt toksisitet og fysiologiske forstyrrelser enn de foregående arter, (H. Toften, pers medd), men det mangler publiserte data på denne arten.

Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) er undersøkt både med hensyn på vekst, syre base balanse, immunforsvar og gjellemorfologi ved hyperoksi. Det observeres endringer i syre-base balanse (Ceccini og Caputo, 2003), immunrespons (Scapigliati et al., 1999, Ceccini and Saroglia, 2002) og morfologiske gjelleendringer (Saroglia et al., 2000, 2002) uten at disse observerte responsene gir seg utslag i redusert vekst eller dødelighet.

### **Antioksidanter i for under hyperoksi**

På laksefisk er det gjort forsøk økt tilsetning av antioksidanter i for og hyperoksi for å undersøke en eventuell positiv effekt av dette. Ingen forsøk rapporterer om økt beskyttelse mot hyperoksi av selen (Brauner, 1999), vitamin E (Brauner, 1999, Lygren et al., 2000) eller vitamin C (Dabrowski et al., 2004).

### ***Oppsummering***

Alle arter har en toksisk grense hvor hyperoxi vil gi akutte gifteffekter, og denne grensen er hos fisk helt klart artsspesifikk. I de fleste undersøkte tilfeller er grenseverdien for akutt gifteffekt så høy at den vil være irrelevant for en normal oppdrettssituasjon. Imidlertid kan ukontrollert dosering gi oksygenkonsentrasjoner over grensenivå. Under denne grenseverdien vil subletale effekter oppstå, ned til et hyperoxi-nivå som ikke gir detekterbare skader. Hvor stort dette området er, og en eksakt nedre grenseverdi er vanskelig å definere ut i fra dagens kunnskap. Det er imidlertid sannsynlig at nedre grense for negative effekter av hyperoxi er sterkt avhengig av temperatur og salinitet. Eksponering for variasjoner i oksygenmetning over relativt kort tid er en situasjon som ikke er studert i forsøk, men som sannsynligvis er vanlig i intensiv oppdrett. Dette kan være en mye mer krevende situasjon å tilpasse seg enn jevnt forhøyede oksygenkonsentrasjoner. Det er ikke funnet noen beskyttende effekt mot hyperoxi av ekstra tilsetning av antioksidanter i fôr.

Akutt dødelighet ved hyperoxi er dokumentert på laks. Det er dokumentert negative effekter av hyperoxi på smoltifiserende laks ved 7-10 grader med oksygenmetningsnivåer rundt 130-140 % i flere forsøk og på ulike parametre. Verdier opp mot og over dette nivået bør derfor unngås på dette livsstadiet under nevnte miljøbetingelser. Negativ effekt på sykdomsresistens er også dokumentert på regnbueørret. Samtidig er det dokumentert økt vekst på høyere hyperoksi nivåer i andre forsøk. De negative effektene som er dokumentert i forsøk med en eller annen form for "challenge test" (eksperimentell sykdomssmitte, stress, sjøvannstester) er verd å merke seg, da fisk i oppdrett vil være utsatt for mange slike "tester" i sitt liv. Det er funnet en markant vekstfordel av et jevnt høyt oksygennivå (ikke over 100% metning) ved høye temperaturer hos voksen laks i sjøvann (A. Bergheim, pers. med.) Det kan derfor godt tenkes at moderat hyperoxi i varmt vann med høy ionestyrke vil være fordelaktig for vekst også hos laks. Dette er et område det til nå ikke har vært forsket nok på.

For marine arter som piggvar, flekksteinbit og seabass er det ikke rapportert om negative effekter av hyperoxi på vekst eller immunforsvar. Dette kan skyldes artsspesifikke forskjeller i toleranse. Resultatet kan også skyldes at syre-base regulering er lettere i bikarbonatrikt sjøvann/brakkvann, eller at høy temperatur (for piggvar og seabass) og salinitet både minker den reelle oksygenkonsentrasjonen. Høy temperatur kan også øke effektiviteten av fiskens forsvarsmekanismer. Det er uansett årsak ikke dokumentert negative effekter av hyperoksi på disse artene. Hos torsk indikerer forsøk og observasjoner at akutt toksisk grense er lavere enn hos andre undersøkte marine arter. På denne arten gjenstår likevel mye før grenseverdier kan settes.

## **Tørrelgging av fisk – vurdering av konsekvenser**

Laksefisk tåler lufteksponering svært dårlig. Forsøk med regnbueørret (*O. mykiss*) (Barton *et al.* 1987), Chinook laks (*O. tshawytscha*) (Barton *et al.* 1986; Barton & Schreck 1987) og Cutthroat laks (*O. clarki*) (Ackerman *et al.* 2000) har vist at 20 minutters lufteksponering vil kunne være dødelig, og at selv eksponering på 30-45 sekunder vil kunne forårsake klare økninger i stresshormonet cortisol (100-300ng/ml) og restitueringsstid på ett til flere døgn.

Et relativt nytt arbeid på piggvar viste at denne arten er svært tolerant til lufteksponering (Van Ham *et al.* 2003). Fisken ble holdt ute av vannet i 20 minutter, og stressresponsene ble undersøkt. Resultatene viste minimale fysiologiske forstyrrelser, men at de var noe mer tydelige på fisk som gikk på 22°C enn på 16°C, og også mer uttalt på fisk som hadde opplevd matmangel. Også andre forsøk med piggvaryngel har vist at de kan overleve lenge ut av vannet så lenge de beskyttes mot direkte uttørking (Boeuf 1999).

I fiskerisammenheng er problemet undersøkt med tanke på hva lufteksponering har å bety for dødelighet av bifangst som slippes ut igjen. For en av de undersøkte artene, ”small sablefish” (*Anoploma fimbria*) viste resultatene at bare 10 minutters lufteksponering forårsaket adferdsforstyrrelser som vil kunne gjøre dem mer utsatt for predasjon fra rovfisk (Davis & Parker 2004). Resultatene viste videre at når det gjaldt restituering tok dette lenger tid for små enn for store fisk.

Lufteksponering har også vært undersøkt i ”largemouth bass” (*Micropterus salmoides*) (Cooke *et al.* 2003). Fisken ble ”jaget” og deretter lufteksponert i 30 sekunder for å simulere det stresset den opplever i forbindelse med såkalt ”put and take” fiske. Resultatene viste at fisken fikk endringer i hjerterate og slagvolum, men at dette ble normalisert i løpet av noen timer etter eksponering.

## **Om bedøvelse av fisk – vurdering av konsekvenser**

Akvakulturnæringen og fiskeribiologisk forskning medfører håndteringsprosesser som i mange tilfeller forenkles dersom fisken er bedøvet. Dette omfatter bl.a. veiing, måling, merking, stryking, vaksinerings og operative inngrep. I tillegg til at arbeidet kan gjøres raskere og mer effektivt vil bedøvelsen også kunne redusere det stress som fisken påføres. Dette er vesentlig ut fra dyreetiske hensyn, men kan også være viktig for å få gode resultater i forsøk der en skal arbeide med for eksempel stress.

Det er imidlertid viktig å ta hensyn til at alle kjente bedøvelsesmidler og –metoder har uønskede fysiologiske bivirkninger. I det følgende er det gitt en oversikt over den viktigste litteraturen som finnes når det gjelder bedøvelse av de viktigste norske akvakultur-artene. Det er også gitt råd om best mulig praksis for å redusere stresset fisken påføres.

Ifølge statistikk fra Legemiddelindustriforeningen/Farmastat var Benzokain (Benzoak Vet) det mest brukte bedøvelsesmidlet til akvakulturnæringen i 2003 med en

omsetning på totalt 6,1 mill kroner. Benzokain (Benzoak Vet.) er også ifølge veterinær Knud S. Torjesen i Legemiddelverket det eneste godkjente preparatet til bedøvelse av oppdrettsfisk, dvs. det eneste som har såkalt markedsføringstillatelse (MT): Det betyr at det er dette middelet som i utgangspunktet skal brukes, og at det må søkes om godkjenningfritak for å bruke andre kjemiske bedøvelsesmidler. Ifølge Legemiddelverket blir slike søknader kun innvilget dersom det er særlig gode grunner til det.

Data fra Statistisk sentralbyrå for perioden 1989 til og med 2001 viser at benzokain gradvis har overtatt for klorbutanol som tidligere var det mest brukte bedøvelsesmiddelet for fisk i Norge (Figur 16). Ut fra tallene ser en også at metakain eller MS-222 også utgjør en relativt stor andel, i alle fall i 2001. Det finnes ifølge Farmastat ikke god statistikk for de senere årene.

Når det gjelder fisk som skal gå til konsum skal disse ifølge Fiskeridirektoratet kun behandles med virkestoffer som står oppført Rådsforordning 2377/90/EEC vedlegg I, II eller III. Dette betyr at fisk som senere skal brukes til matfisk ikke kan behandles med verken isoeugenol, klorbutanol eller metomidat.

Denne gjennomgangen tar utgangspunkt i en rapport om merking og bedøvelse av fisk som ble laget i forbindelse med "Forskningsprogram om fiskeforsterkningstiltak i norske vassdrag" (Barlaup & Åtland, 1990). Nye bedøvelsesmidler er kommet til siden den tid, og mer er kjent om effektene av midlene. Gjennomgangen er derfor supplert og oppdatert med nyere litteratur.



Figur 16 Oversikt over salg av bedøvelsesmidler til bruk på fisk i Norge for perioden 1989 til og med 2001. Kilde: Statistisk sentralbyrå. Mengdene er oppgitt som kg aktiv substans.

### ***Hvorfor bedøve - kan fisk føle smerte?***

Hos pattedyr overføres akutt smerte via frie sensoriske nerveender, nosiseptorer. Evnen til å registrere smertefulle stimuli kalles nosisepsjon. Fysiologisk definisjon av nosisepsjon; ”En reseptor som aktiveres av stimuli som gir vevsødeleggelse, eller som vil gi vevsødeleggelse visst stimuli fortsetter”. Smerte er derimot en subjektiv opplevelse som defineres psykologisk; ”En ubehagelig sensorisk og emosjonell opplevelse, som opptrer i sammenheng med vevsskade eller truende vevsskade, eller blir beskrevet som om den skyldes vevsskade” (Brodal, 1990).

I mennesker oppleves smerte ofte fordi nosiseptorer er stimulert og vi kjenner ubehag/smerte. Vi setter dette i sammenheng med at "noe" er galt i kroppen. Likevel opplever vi både at nosiseptorer kan være meget stimulert uten at vi oppfatter smerten, og omvendt at vi opplever stor smerte uten å kunne påvise aktivitet fra nosiseptorer. Dette forklares ved at hjernen har mulighet til å dempe smerten (den hindres i å komme fram til bevisstheten), eller i det andre tilfellet at smerten fortsetter lenge etter at skaden er helet. Dette kan skyldes nevrologiske feil for eksempel thalamiske smerter eller fantom-smerter fra armer man ikke har eller at smerten sitter i hjernen og kan forklares ut fra individets kognitive opplevelse av smerten.

Et akutt smertefullt stimulus overføres via raske nervefibre til sentral nerve systemet, CNS, nærmere bestemt ryggmargens dorsal horn. Her koples nerven til en motorneuron som går tilbake til stedet der smerten oppstod og sørger for at vi får fjernet kroppsdelen fra ”det vonde” før vi har fått anledning til å bli bevisst smerten. Den langsommere nervefibren koples over på afferente nerver som går i den spino-thalamiske trakt til thalamus, og videre til hjernebarken, neocortex, der vi blir bevisst vår smerte. Thalamus er en omkopplings sentral for det meste av sensorisk informasjon som passerer til hjernen. Fra dette stedet går det også efferente nerver ned til ryggmargens dorsalthorn og kopler seg på nerver som bringer smertefull informasjon til hjernen. Disse nervene inneholder inhiberende neurotransmittere, slik som endorfin og GABA, og hindrer afferente nerver å videreføre sin smertelige informasjon til hjernen.

Velle (1992) og Rose (2002) mener at fisk ikke er i stand til å føle smerte, og begrunner dette med fisk mangler de hjernestrukturer som vi har, og er nødt til å ha for å oppfatte smerte, nemlig vårt bevissthetssenter i neocortex. Blant filosofer har denne oppfatningen større utbredelse, og blir blant annet hevdet av filosofen Gjelsvik i artikkelen om fisk, etikk og smerte (2002). Mange naturvitenskapelige forskere hevder at fisk sannsynligvis opplever smerte, frykt og stress på samme måte som andre virveldyr. Påstanden er basert på likhetspunkter mellom fisk og pattedyr når det gjelder anatomi, fysiologi og adferd. Det finnes pr. i dag godt naturvitenskapelig belegg for å hevde at fisk kan føle fiskesmerte. Forskningsresultater som beviser dette er beskrevet i en nylig publisert oversiktsartikkel om emnet (Sohlberg, 2004).

De fysiologiske studiene konkluderer med at fisk er i stand til å lide under forutsetning av at fiskehjernen inneholder strukturer som er analoge med menneskehjernen, at fiskens nervesystem har reseptorer som er sensitive for skade, at det finnes sentrale opioide reseptorer og at fisken responderer på skade eller truende

stimuli ved å flykte. I mange fiskearter er det påvist nosiseptorer der stimuli overføres til CNS i både langsomme og raske nervefibre.

Neocortex mangler i både fugl og fisk, men i fisk er det funnet neuroner i telencephalon som er homologe med neuroner i pattedyrs storhjerne. Nyere forskning hevder at fisk har en emosjonell hjerne basert på viten om utviklingen av vertebrat hjernen og homologi mellom adferd og neuro- hormonelle og strukturelle trekk. Andre forsøk viser at det er belegg for å hevde at ”samtlige av menneskers følelser kan utløses fra gamlehjernen eller reptilhjernen”.

Neurotransmittere som seretonin, substans P, CGRP, neuropeptid Y og bombesin er påvist i CNS i fisk, og det er grunn til å tro at disse NT viderefører nosiseptiske signaler i fisk slik som er tilfellet i pattedyr. Det er påvist opioid-liknende stoffer i beinfisk, gullfisk, laks og stør. Neuro peptidreseptorer som har affinitet for opioide reseptorer er ansvarlig for hemming av smerteperspsjon i pattedyr og da slike også er funnet i fisk er det grunn til å tro at disse reguleringssystemene har samme funksjon i fisk blant annet ørret. Det er også vist at ørret responderer på ikke-opioide analgetika.

Endring i adferd observeres også i fisk etter påføring av samme type nosiseptive stimuli som i pattedyr. Klassisk eksempel er synkende antall fisk som biter på kroken for andre og tredje gang. Solberg, 2004 konkluderer med at litteraturstudien viser at fisk har både anatomiske, neuro-fysiologiske, biokjemiske og adferdsmessige forutsetninger for et nosiseptisk system slik vi kjenner det fra mennesket.

### ***Klassifisering av bedøvelsesfasene for fisk***

Adferdsendringene som oppstår hos bedøvet fisk er beskrevet og klassifisert av McFarland så tidlig som i 1959 (tabell 13). En skiller mellom lettere bedøvelse (sedasjon) og dypere bedøvelse (anestesi). Sedasjon er definert som nedsatt aktivitet og nedsatt reaksjon på ytre stimuli, mens anestesi er definert som bevissthetstap, opphørt muskeltonus og reflekser. Flere senere arbeider har modifisert denne beskrivelsen men hovedtrekkene er de samme.

*Tabell 13 Klassifisering av adferdsendringer som opptrer hos fisk under sedasjon og anestesi. Gjengitt etter McFarland 1959.*

Stadium		Fiskens adferd
0	Normal	Reagerer på ytre stimuli, muskeltonus og svømmeferdighet normal
I-1	Lett sedasjon	Nedsatt reaksjon på ytre stimuli (lys, berøring)
I-2	Dyp sedasjon	Opphørt reaksjon på ytre stimuli, bortsett fra kraftig trykk, noe nedsatt frekvens på gjellebevegelsene
II-1	Delvis tap av svømmeferdighet	Reagerer kun på svært kraftige stimuli (trykk og vibrasjon). Delvis tap av muskeltonus. Fisken er i stand til å holde seg flytende, men svømmeferdigheten er sterkt nedsatt. Økt gjellefrekvens.
II-2	Fullstendig tap av svømmeferdighet	Opphørt muskeltonus, reagerer bare på dype trykkstimuli, gjellefrekvensen under det normale.
III	Tap av reflekser	All reaktivitet opphørt, respirasjonen nedsatt, hjerterefrekvensen nedsatt.
IV	Kollaps	Gjellebevegelsene opphørt. Følges noen minutter senere av hjerrestans.

-

### ***Operasjonelle råd om bedøvelse og håndtering av fisk***

Fisk må håndteres så forsiktig som mulig for å unngå å skade slimlaget som beskytter fiskens hud. Dette gjøres best ved å bruke våte plast- eller latekshansker. Overflaten som fisken skal legges ned på bør også være fuktig, gjerne et fuktig tøystykke for å hindre at fisken glir på underlaget.

I forbindelse med stryking må en være oppmerksom på at bedøvelsesmiddelet kan ha negative effekter på kvaliteten av rogn og melke. En studie gjort på bekkerøye viste at en konsentrasjon av MS-222 på en fjerdedel av det som brukes til anestesi, nedsatte spermienes levetid (Allison, 1961). Andre viktige praktiske råd når det gjelder bedøvelse av fisk er:

1. Unngå å bruke kar som reagerer kjemisk med bedøvelsesmiddelet. Metallkar bør ikke brukes.
2. Vannet som fisken bedøves i skal ta fra det karet fisken oppholder seg eller fra vann av samme kvalitet og temperatur. Det samme gjelder oppvåkning.
3. Vær oppmerksom på forringelse av vannkvaliteten i bedøvelseskaret
4. Hold eksponeringsbadet godt luftet
5. Det anbefales å teste bedøvelsesløsningen på noen få fisk før generell bruk. Dette er spesielt viktig dersom en arbeider med nye arter eller livsstadier hvor en har begrenset erfaring.
6. Bruk helst fersk bedøvelsesløsning, og kontroller alltid at den fremdeles er innenfor holdbarhetsgrensen.
7. Kontroller vanntemperaturen i bedøvelseskaret, og sørg for at den er så lik som opphavkaret som mulig.
8. Bedøv aldri fisk i direkte sollys. Dette kan gi giftig bedøvelsesløsning (Bell, 1987).
9. Vær oppmerksom på pH-forandringer i bedøvelseskaret, spesielt i vann med dårlig bufferkapasitet.
10. Fisken bør sultes 48 timer før bedøvelse. Dette er noe avhengig av temperatur, og noe lengre sultetid krever ved lave vanntemperaturer.
11. Bruk hansker og sørg for god ventilasjon. Ha mulighet for øyespyling. Bruk beskyttelsesbriller ved bruk av bedøvelsesmiddelet MS-222.

### ***Kjemisk bedøvelse***

En oversikt over de mest brukte bedøvelsesmetodene er gitt i tabell 14. Som oftest bedøves fisken ved at bedøvelsesmiddelet tilsettes i vannet, og tas opp over gjelleoverflaten, men i noen tilfelle gis bedøvelsen også som injeksjon eller oralt. I forbindelse med kirurgiske inngrep brukes det ofte en kombinasjon av disse metodene der fisken først sedateres, og deretter injiseres bedøvelse for eksempel lidokain lokalt der inngrepet skal gjøres (Kiessling *et al.*, 2003).

*Tabell 14 Oversikt over de mest brukte kjemiske bedøvelsesmidlene.*

Bedøvelsesmiddel	Andre navn	Kjemisk navn	Status
Benzokain	Benzoak Vet	etyl-p-aminobenzoat	Godkjent
MS-222	Finquel, Metakain, Trikain metansulfonat	Etyl-m-amino-benzoatmetansulfonat	Ikke godkjent
Klorbutanol	Klorbutol, chloreton, acetonkloroform	Klorbutanol	Ikke godkjent
Clove oil	Nellikolje, virkestans: eugenol		Ikke godkjent
Metomidat			Ikke godkjent

### **Benzocain**

Anbefalt dose: 30-50 mg/l dvs. Benzoak Vet. (20% benzokain) 15-20 ml/100 liter vann.

Benzokain er i utgangspunktet uløselig i vann, og må derfor først løses i aceton eller etanol. Benzokain virker ved å hindre overføring av nerveimpulser gjennom blokkering av Na<sup>+</sup>-kanalene. Hvilepotensialet forblir stabilt, mens aksjonspotensialet avtar.

Ved vanntemperaturer på 10-15 grader oppnås vanligvis ønsket anestesi etter 2-5 minutter for laksefisk (SIFF 1987). En studie på torsk (9,5°C, 100 grams fisk) fra viste at anestesi ble oppnådd etter 2-3 minutter med en dose på 50mg/l (Mattson & Ripple, 1989). Ved høyere vanntemperatur vil indusjonstiden forkortes noe. Forsøk med ørret viste at innsovning etter benzokainbedøving tok 1,5 min lenger tid i vann ved 7°C sammenlignet med 12°C (Dawson & Gilderhus, 1979). Når fisken overføres til friskt vann vil oppvåkning skje etter 5 til 15 minutter. Ifølge preparatomtalen hos Statens Legemiddelverk bør maksimal eksponeringstid i bedøvelsesløsningen ikke overskride 15 minutter.

Det finnes en omfattende litteratur på effektene av bedøvelse med benzokain, og resultatene viser stort sett at effekten er god (Ross & Ross, 1983). En sammenligning mellom benzokain og MS-222 på regnbueørret har vist benzokain forårsaket mindre økning i blodglukose enn MS 222 både på ettåringer og eldre fisk (Wedemeyer, 1970, Soivo *et al.*, 1977). Nyere studier der bedøvelse med benzokain ble sammenlignet med en rekke andre bedøvelsesmidler på laksesmolt (Iversen *et al.*, 2003) kan imidlertid tyde på at det finnes bedre alternativer. Resultatene viste at benzokain, i motsetning til de andre bedøvelsesmidlene som ble undersøkt (Metomidat og clove-oil og AQUI-S), ikke hadde noen god effekt når det gjaldt å redusere stress ved prøvetaking målt som økning i plasma cortisol-nivåene.



### **MS-222**

Anbefalt dose: 50-100 mg/l

MS-222 og benzokain er begge derivater av p-aminobenzosyre, og virkningsmekanismen er derfor i prinsippet den samme. MS-222 skiller seg fra benzokain ved at det er bundet en metyl-sulfonat gruppe til aminet (Tytler & Hawkins, 1981). På verdensbasis er MS-222 er pr. i dag trolig det mest brukte bedøvelsesmidlet for fisk, og det er også det eneste godkjente middelet i USA (Marking & Meyer, 1985).

Innsøvningstid og oppvåkningstid er omtrent den samme som for benzokain.

Effekten av MS-222 er meget godt studert på en rekke livsstadier og arter av fisk, og effekten er generelt sett svært god med få bivirkninger (oppsummert i Bell, 1987 og Wagner *et al.*, 2003).

Ved bruk av MS-222 er det viktig å være oppmerksom på at bedøvelsesløsningen kan være toksisk når den brukes i sjøvann utsatt for direkte sollys (Bleil 1987). MS-222 gir en sur løsning, og kan forårsake kraftig pH-fall i vann med lav alkalitet. Det anbefales derfor å bufre stamløsningen med for eksempel NaHCO<sub>3</sub> til pH omkring 6,5 (Bell, 1987, Burka *et al.*, 1997)

Det er imidlertid i enkelt studier påvist at middelet kan påføre fisken stress under visse betingelse (Iwama *et al.*, 1989). Nyere studier har ikke vist tilsvarende negative effekter av MS 222. Den største ulempen med bruken av middelet er imidlertid at det kan forårsake øyeskader hos mennesker (Bernstein *et al.*, 1997).

### **Klorbutanol**

Anbefalt dose: 30g i 100 ml etanol, 10 ml av denne stamløsningen til 10 liter oksygenert vann (SIFF 1987).

Klorbutanol er et fargeløst, krystallinsk pulver med kamferlignende lukt. Middelet var tidligere det mest brukte her i Norge (Moksnes & Thorud, 1989).

Innsøvnings- og oppvåkningstid ved denne doseringen er omkring 3-5 minutter. Klorbutanol er sagt å gi en lett anestesi som vanligvis er tilstrekkelig til håndteringsprosedyrer av kort varighet (eks. merking) (Horsberg & Høy, 1989, Johansson, 1978). Studier gjort på laksesmolt i Imsa viste 87% reduksjon i gjenfangst for både ett- og to-årig som var bedøvd med klorbutanol før utsetting sammenlignet med ubedøvd fisk (Hansen & Jonsson, 1998).

Klorbutanol har også vært utprøvd på kveite (*Hippoglossus hippoglossus*) med en dosering på 50 ml stamløsning pr. 10 liter vann. Forsøkene viste at innsøvnings- og oppvåkningstid økte med økende størrelse på fisken (Grønseth & Myhre, 1988).

Klorbutanol er helsekadelig (NMD, 1986a). Inhalasjon av store mengder eller svelging av små mengder vil kunne medføre bevisstløshet. Stoffet kan også virke irriterende på øyne og hud.

### **Clove oil**

Anbefalt dose: 50 mg/l

Clove oil eller kryddernellikolje med de aktive virkestoffene eugenol, isoeugenol og methyleugenol hvorav eugenol utgjør 85-95%. Clove oil kommer fra blomster, stilk og blader av det tropiske kryddernelliktreet (*Eugenia aromatica*). Det er et kjent brukt krydder, og også har lenge vært brukt som bedøvelsesmiddel av tannleger. Middelet er i utgangspunktet uløselig i vann, og må derfor først løses i aceton eller etanol Dette er et relativt nytt middel som ennå ikke er godkjent i Norge. Middelet er imidlertid klarert som "Generally Recognized as Safe" (GRAS) som tilsetningsstoff i mat og i dyrefor (FDA 2002). Et annet beslektet middel er AQUI-S hvor hovedbestanddelen er isoeugenol.

Virkningsmekanismen for clove-oil skyldes at eugenol inhiberer enzymet prostaglandin H synthase (PHS) (Keene *et al.*, 1998).

Effekten av clove-oil er sammelignet med bl.a. MS-222. I flere av disse studiene funnet raskere bedøvelseseffekt men noe lengre tid på oppvåkning ved bruk av clove-oil. Dette har vært vist både for juvenil og adult regnbueørret samt hos chinook-laks (Anderson *et al.*, 1997; Cho & Heath, 2000). Forskjellen i innsovningstid mellom de to metodene kan muligens tilskrives nellikoljens høye fettløselighet, mens forskjellen i oppvåkning kan skyldes at MS-222 virker stimulerende på hjertefrekvensen (Randall, 1962), mens nellikoljen har en inhiberende effekt (Hikasa *et al.*, 1986). En nylig publisert studie viste at regnbueørret eksponert til MS-222 hadde forhøyede cortisolnivåer en time etter håndtering, men tilsvarende ikke var tilfelle ved bruk av nellikolje (Wagner *et al.*, 2003). Dette kan tyde på at forbindelsen er mer effektiv i å redusere håndteringsstresset for fisken enn MS-222.

### **Metomidat**

Anbefalt dose: 7,5 – 15 mg/l

Metomidat skiller seg fra de andre bedøvelsesmidlene ved at det er et såkalt hypnotisk middel uten analgesi (smertestillende effekt) (Horsberg & Samuelsen, 1999; Ross & Ross, 1999). Innsøvning- og oppvåkningstid har i en del studier vist seg å være noe lengre enn for benzokain og MS-222. Tid til innsøvning er oppgitt fra 2-5 minutter, mens fisken vil våkne etter 6-12 minutter.

Forsøk gjort med laks har dokumentert at metomidat kan forhindre økning i plasmacortisol når fisk utsettes for stress (Olsen *et al.*, 1995).

Dette middelet har også vært testet på kveite og piggvar både som bad og intravenøst samt oralt for piggvar (Hansen *et al.*, 2003). Immobiliseringen var rask, mens fisken brukte relativt lang tid på oppvåkning. Oral bedøvelse viste seg å være en egnet metode på piggvar, og dette kan være greit for å unngå å måtte håve for å ta ut en enkelt fisk i større kar.

### ***Oppsummering***

Fisk har etter all sannsynlighet forutsetninger for å registrere smerte og det er derfor riktig å bedøve før potensielle smertefulle håndtering. Graden av smerte har aldri vært i fokus i forbindelse med stikkvaksinering eller annen håndtering som krever bedøvelse. Bakgrunnen for å bedøve fiske i oppdrettssammenheng er som oftest motivert ut i fra et behov av å få fisken til å ligge stille.

Slik lovverket og status med hensyn til godkjenning av legemidler er i dag er det benzokain som skal brukes som bedøvelsesmiddel.

For laksefisk ser nellikolje ut til å være et meget godt alternativ til de mer tradisjonelle metodene ettersom effekten er omtrent lik eller noe bedre på å redusere stress hos fisken. At forbindelsen er ugiftig og godkjent som tilsetningsstoff til mat (USA) burde også være et av stor betydning spesielt for akvakulturnæringen både med tanke på de som skal håndtere fisken og de som skal spise den. Dette krever imidlertid at det søkes om og videre at preparatet godkjennes av Legemiddelverket.

For de marine artene er litteraturen langt mindre omfattende. Det er derfor spesielt viktig å ta hensyn til dette, og teste bedøvelsesløsningen på noen få fisk før en setter i gang med storskala bruk.

Den viktigste komplikasjonen ved alle former for kjemisk bedøvelse er oksygenmangel (hypoksi) (Horsberg & Høy, 1989). Dette er et resultat av redusert vannstrøm over gjellene, og vil til en viss grad kunne motvirkes ved å luften/oksygenere vannet i bedøvelseskaret.

I den internasjonale litteraturen på bedøvelsesmetoder for fisk finnes det vært svært lite informasjon om vannkvaliteten i bedøvelseskaret bortsett fra problemene knyttet

til at noen av bedøvelsesmidlene gir sur løsning og må bufres. Forringelse av vannkvaliteten i bedøvelseskaret er særlig viktig å være oppmerksom på når det er store mengder fisk som skal bedøves i forbindelse med for eksempel merking eller vaksine. Velferdsmessig vil det være viktig å overvåke vannkvalitet i bedøvelseskaret. En studie gjort av KPMG (Rosten pers. medd.) dokumenterte store endringer i vannkvaliteten i bedøvelsesstampen etter bare en times bruk. Målingene ble gjort i 70L bedøvelsesstamp ved vanntemperatur på 5°C, ferskvann med pH 6,0. Resultatene viste pH-fall fra 6,0 til under 5,0, trolig pga. fiskens utskilling av CO<sub>2</sub>. Total ammonium nitrogen (TAN) økte også fra omtrent null til 3,5 mg/L etter en time. På grunn av den lave pH var lite av dette på den giftige formen som ammoniakk (NH<sub>3</sub>). Ved lufting av vannet i stampen vil pH øke, og potensialet være stort for akutt giftighet av ammoniakk. Også målinger av CO<sub>2</sub> viste en tydelig økning. På bakgrunn av disse forsøkene anbefales det derfor at det skiftes bedøvelsesløsning relativt ofte, og at en i større grad dokumenterer endringene i vannkvalitet i alle fall der bedøvelse av store mengder fisk gjøres rutinemessig.

## Vurderinger av anbefalinger for vannkvalitet fra EC – standing committee

I denne gjennomgangen har vi benyttet den 13. revisjonen av anbefalinger knyttet til oppdrettet fisk utarbeidet av The Standing Committee of the European Convention for Protection of Animal Kept for Farming Purposes.

Tabellene nedenfor oppsummerer de foreslått kravene til vannkvalitet og med våre kommentarer og vurderinger på kontrollerbarhet og nivå for laks.

*Tabell 15 Vurdering av anbefalinger til vannkvalitet på laks fra EC-standing committee.*

Vannkvalitets parameter	ECSTC krav	Kommentar på målbarhet	Kommentar på nivå
Oksygen	<p>A. Minimum 70% metning for smolt</p> <p>B. Minimum 60% metning for stor laks</p> <p>C. Metning skal ikke overskride 120% for lange perioder</p> <p>D. Avløpsvann skal ikke være lavere 7 mg/l, og aldri laver enn 6 mg/l</p> <p>E. For smolt skal tilgjengelig O<sub>2</sub>-metning i avløp være i området 6,5 – 16,5 mg/l</p>	<p>Kontrollerbarheten for dette er god, men den forutsetter oksygenovervåkning i alle oppdrettsenheter, også i sjøen.</p> <p>Tilgjengelig utstyr er å få kjøpt.</p> <p>Viktig å sette krav til inspeksjon, kalibrering og vedlikehold av utstyret.</p>	<p>A. Kravet anses som fornuftig</p> <p>B. Kravet anses som fornuftig, men vil kunne forutsette tilsats av oksygen / luft / vann i perioder i sjøen.</p> <p>C. Kravet virker fornuftig og vil sette krav til lukkede transport-enheter</p> <p>D. 7 mg/l er gyldig kun opp til 15,5 °C ved krav om 70% metning for smolt. 6 mg/l er gyldig opp til 23 °C (i ferskvann). Kravet anses som fornuftig, men vil betinge tekniske innretninger for tilsats av oksygen</p> <p>E. Dette kravet kan være litt forvirrende i og med at 120% metning skal unngås.</p>
Ammoniakk	<p>A. Maksimum nivå av uionisert ammoniakk (NH<sub>3</sub>-N) skal være 4 µg/l for smolt</p> <p>B. Maksimum nivå av uionisert ammoniakk (NH<sub>3</sub>-N) for stor laks skal være 5 µg/l.</p>	<p>Kontrollerbarheten av dette er ikke spesielt operativt, da riktig estimat på NH<sub>3</sub>-N forutsetter riktig målt pH, salinitet og temperatur, uttak av vannprøver for analyse på akkreditert laboratorium og beregning av NH<sub>3</sub>-N ved formel.</p> <p>Anslag på nivå av TAN er mulig å gjøre ut i fra anslag på mengde CO<sub>2</sub>. Man må da kjenne oksygenforbruket til biomassen i karet, pH, temperatur og salinitet.</p>	<p>A. Kravet er forholdsvis strengt satt ut i fra det som er vitenskapelige dokumenterte nivå på skadeeffekter, men fornuftig ut ifra det man operasjonelt søker å oppnå i god vannkvalitet. Vi anslår at ca 97,5% av Norske settefiskanlegg vil klare dette kravet.</p> <p>B. Maksimum nivå av uionisert ammoniakk (NH<sub>3</sub>-N) for stor laks skal være 5 µg/l.</p>
CO <sub>2</sub>	<p>A. Maksimumnivået skal være 10 mg/l ved temperaturer på 15-16 grader</p>	<p>Sikre og gode prosedyrer for prøvetaking og analyse er etablert av NIVA gjennom VK-programmene i Norge.</p> <p>Analyse ved hjelp av kit er usikkert og ser ut til å kunne underestimere nivå av CO<sub>2</sub> i ferskvann og overestimere nivå av CO<sub>2</sub> i sjøvann.</p> <p>Oksygenforbruk i kar</p>	<p>A. Nivået virker å være for strengt satt i forhold til operasjonelle nivå i næringen. Gjennomsnittlig CO<sub>2</sub>-nivå er mellom 10-13 mg/l i norske settefisk-anlegg om våren ved ca 9°C i vannet. Halvparten av anleggene ville ikke klare kravet.</p> <p>Nivået er også strengt satt i forhold til yngel som har en høyere metabolisme og</p>

		(dropp fra innløp til utløp) gir en brukbar indikasjon på nivå, dvs et dropp på 10 mg/l i O <sub>2</sub> indikerer høyere nivå enn 10 mg/l CO <sub>2</sub> .	<p>høyere temperaturpreferanse.</p> <p>Transport i lukket system ville bli umulig å gjennomføre.</p> <p>Kunnskapen om samvirkning av CO<sub>2</sub> og oksygen er mangelfull.</p> <p>Noe høyere CO<sub>2</sub>-nivå vil virke beskyttende mot akutt ammoniakk-forgiftning og motvirke giftighet av kobber i sjøvann.</p>
pH	<p>B. pH "range" i ferskvann skal være innenfor området 6,0 – 8,5</p> <p>C. pH "range" i sjøvann skal være innenfor området 7,0 – 8,5</p>	<p>Kontrollerbarheten av pH er i teorien god, men i praksis ofte problematisk, særlig der vi har ionefattig vann.</p> <p>Levetiden på pH - elektrodene er ofte kortvarig og det kreves mye vedlikehold og kalibrering.</p> <p>Fiskens metabolisme induserer ofte et CO<sub>2</sub>-betinget dropp i pH på 0,3 enheter i karet.</p>	<p>A. Det er ikke angitt om "range" på pH gjelder råvann (innløpsvann) eller karvann. Generelt vil man nok få større problemer med vannkvaliteten i et intensivt oppdrettskar ved pH verdier over 8 enn under 6, pga økende ammoniakk andel. pH litt under 6,0 kan være greit oppdrettsvann om det er lavt på metaller eller ikke blandes med sjøvann over 3%. Som retningsgivende på veiledende verdier på innløpsvann virker imidlertid nivåene fornuftig. Imidlertid vil ca 20% av norske settefiskanlegg ha problemer med å oppfylle dette kravet.</p> <p>B. Erfaringer fra lukket transport i sjøvann viser at pH ofte faller til omkring 6,5 pga akkumulering av CO<sub>2</sub>. Dette virker beskyttende mot akutt ammoniakkdødelighet som ellers ville kunne oppstå ved samme intensitet og høyere pH. For oppdrett av laks i merd i sjø virker pH rangen å være fornuftig.</p>
Temperatur	<p>A. Krav til temperatur for egg og plommeseckkyngel er under 8 °C eller under 10 °C avhengig av fiskestamme</p> <p>B. For eldre fisk er optimums-temperaturen i størrelsesorden 6-18 grader</p>	<p>Kontrollerbarheten for dette er god og gjennomførbar.</p> <p>Tilgjengelig utstyr er å få kjøpt.</p>	<p>A. Kravet virker fornuftig ut i fra dokumentasjon av problemområde</p> <p>B. Antar at dette kun er veiledende da kravet er umulig å opprettholde i den norske vinteren hvor vi opplever temperaturer ned mot 0 grader i vannet uten at det medfører dødelighet for laksen. Generelt synes problemene å være større ved høyere vanntemperaturer. I sjøen er ofte dette assosiert med lave oksygenverdier.</p>
Salinitet	<p>A. De minste livs- stadiene av laks skal ikke bli eksponert for høy salinitet unntatt i terapeutiske formål</p> <p>B. Kjønnsmoden fisk skal ikke holdes i vann med høy salinitet.</p> <p>C. Det maksimale</p>	<p>Kontrollerbarheten for dette er god og gjennomførbar.</p> <p>Tilgjengelig utstyr er å få kjøpt.</p>	<p>A. Hva som menes med høy salinitet er ikke definert (antar &gt;28ppt). Man kunne like gjerne skrevet ikke smoltifisert fisk,</p> <p>B. Belegget og den fysiologiske relevansen for å kreve dette er usikkert. Mye kjønnsmoden laks (både vill</p>

	salinitetsnivå skal ikke overskride 35 ppt		og oppdrettet) venter i sjøen uten problemer. Eggkvaliteten blir imidlertid noe bedre når gytefisken er tatt opp av sjøen og oppbevares i ferskvann. C. Sjelden noe praktisk problem.
Sulting	A. Maksimal sultetid skal ikke overskride 54 døgngader (snitt daglig temp x antall dager) eller 72 timer	Døgngader er greit kontrollerbart.  Kontroll for om fisken er tom i tarmen må medføre avlivelse og obduksjon av fisk.	A. Kravet som er angitt passer for smolt og mindre fisk Sultetid normalt praktisert og foretrukket i matfiskanlegg før slating er imidlertid lengre (70-80 døgngader).
Fisketetthet	A. Fisketetthet er avhengig av oppdrettsteknikker og kontroll med vannkvalitet B. Oppdrettstetthet for voksen fisk skal ikke overskride 25 kg/m <sup>3</sup>	Fisketetthet i forhold til m <sup>3</sup> er en relativ grei parameter å kontrollere selv om det vil måtte ilegges en feilmargin. Det er også muligheter for telle opp fisken maskinelt om man skulle ha behov for å verifisere dette. Reelt volum av oppdrettsenheten i i sjø kan være vanskelig å kontrollere	A. Dette stemmer, men det er også avhengig av livsstadie. Fisketetthet alene har ingen verdi rent vannkvalitetsmessig om man ikke samtidig ser den i forhold til vann-tilførselen. B. Ikke definert hva som menes med voksen fisk. Ut i fra lavere metabolisme skulle man kunne tillate høyere tetthet av voksen fisk. Forslaget om ikke å overskride 25 kg/m <sup>3</sup> må være begrunnet ut fra dagens merdteknologi uten tilleggsoksygenering i sjø.  Tetthet i brønnbåt vil overskride 25 kg/m <sup>3</sup> . På grunn av den store vannutskiftningen i en brønnbåt som kjører med åpen vann-utskiftning er det ikke problematisk med tettheter mellom 130 – 180 kg/m <sup>3</sup> .

**Alt i alt virker** Europarådets retningslinjer fornuftige, spesielt de innledende artiklene (1-22) før kriteriene for laks listes opp. Når det gjelder selve kravlista så er ikke den fullt så god som de innledende artiklene skulle tilsi. Det som i svært liten grad dekkes av dette er transport og håndtering av fisk. Kriteriene er på mange måter satt ut fra et anlegg med relativt stor vanngjennomstrømming. Spesielt kravene til NH<sub>3</sub>-N og CO<sub>2</sub> er meget strenge. Imidlertid vil nok norske settefiskoppdrettere kunne oppfylle kravene forholdsvis greit. Dette har sammenheng med at vi jevnt over har god tilgang på mye vann og at våre anlegg er gjennomstrømningsbaserte. Vi vil anta at smoltoppdrettere i Skottland, Irland og Færøyene vil ha større problemer med å klare kravene da tilgangen på ferskvann er mindre og resirkulering er mer utbredt som teknologi.





## **Konklusjon – anbefalinger til mattilsynet**

Når Vannkvalitet er blitt studert, har ikke det nødvendigvis vært i forhold til fiskevelferdsbegrepet. Betragtninger på hva som er god fiskevelferd må derfor finnes i spennet mellom akutte toksiske grenser og hva som er optimal vannkvalitet for arten. Den fysiologiske rettede definisjonen på dyrevelferd fra den engelske professor Donald Broom er den som kanskje passer best for oppdrettsfisk og vannkvalitet: "The welfare of an animal is its state as regards its attempts to cope with its environment"<sup>xxv</sup>. En omskrivning av dette kan være at velferd kan uttrykkes som *fisken sin status i forhold til hvordan den mestrer miljøet*.

Oppdrett av fisk i dag ligger på skalaen mellom det som er optimalt for fisken ut i fra en vill tilstand og det som betinget er skadelig for fisken. Vår vurdering er at de generelle forutsetninger for at fisken kan mestre miljøet er gode i norsk oppdrettsnæring. Bakgrunnen for dette er nok at vi stort sett har hatt god tilgang på hensiktsmessige vannressurser som har kunnet blitt utnyttet til oppdrettsformål.

Likevel kan man for en del av de aktuelle vannkvalitetsparametere fastslå at det er mulig å måle at fisken må gjennomføre fysiologiske tilpasninger for å mestre oppdrettsmiljøet.

Eksempler på slike fysiologiske tilpasninger kan være;

1. Økt gjellefrekvens ved lavere oksygeninnhold i vannet
2. Økning i hemoglobin og endring i oksygenbindingsforhold i fiskeblod ved eksponering for lavere oksygeninnhold i vann
3. Nedregulering av gjellefrekvens ved høyere oksygeninnhold i vannet
4. Bevisst søk til vannlag med lavere temperatur når oksygennivå i andre vannlag er lav
5. Kompensasjon for CO<sub>2</sub>-indusert syre-base stress ved å øke [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] i plasma og blodceller og senke nivå av plasma [Cl<sup>-</sup>] noe.
6. Økt svømmeaktivitet hos kveite når tetthet av fisk i enheten stor
7. Nedsatt appetitt og aktivitet ved forhøyet nivå av ammoniumsforbindelser og CO<sub>2</sub>.

Hvordan fisk reagerer helsemessig på ulike kvalitetsforskjeller i vannkvalitet vil være avhengig av art, livsfase og sannsynligvis fiskestamme.

Velferdsindikatorer for fisk i oppdrett bør være en sammenstilling av ulike parametere som på en best mulig måte gir et bilde av fiskens tilstand der og da. Hva angår fisk må parametrene være appliserbare på en gruppe. I vurdering av (egne) parametere for fisk må en også legge inn vektning av ekstremer observert i gruppen i tillegg til gjennomsnittlige observasjoner. I lys av dette mener vi følgende parametere skal overvåkes for å sikre fisk en god velferd i forhold til vannkvalitet.

1. Oksygennivå i innløp og utløp
2. pH i råvann, behandlet vann og utløpsvann fra enheten
3. Temperatur og salinitet (der det er påkrevd).
4. Vannmengder inn i enheten skal til enhver tid kunne verifiseres /inspiseres

5. Daglig fôrinntak
6. Gode estimater på løpende utvikling i snittvekt og totalvekt skal foreligge for hver enhet
7. Dødelighet i hver enhet
8. Avvikende atferd som sturing, appetittap, aggressivitet og unormale flukt / frykt responser skal kunne avdekkes ved daglig inspeksjon av enheten

Problemet med vannkvalitet og dyrevelferd er den dynamikk og samvirkning som eksisterer både for de fysiologiske og de kjemiske prosessene, samt i flere kombinasjoner av disse. Mattilsynets ønske om å relatere vannkvalitet og dyrevelferd til tetthetsbegrepet er derfor ikke mulig å applisere uten tilleggskrav. Den reelle vannkvaliteten i oppdrettsenheten bestemmes av sammenhengen mellom vannutskiftningen i oppdrettsenheten i forhold til den samlede virkning av metabolismen som biomassen utøver på vannet i enheten. Skal et tetthetskrav ha relevans må man derfor ledsage dette av å ha et minimumskrav til vanntilførsel. Spesifikt vannforbruk, dvs liter/kg fisk/min, forener disse faktorene, men kan likevel ikke appliseres som en fast grense da vannbehovet er påvirket av fiskens metabolisme. Metabolismen øker på sin side både med stigende temperatur og en rekke fysiologiske forhold, men den avtar med økende kroppsstørrelse. Både ammoniakk og CO<sub>2</sub> er restprodukter av metabolismen. Begge har velferdsmessig relevans. Under oppdrett med gjennomstrømningsystemer representerer ammoniakk normalt liten fare. Man kommer raskere opp i et velferdsrelevant område når det gjelder CO<sub>2</sub>. Det kan få stor betydning for oppdrettsnæringen om grensenivået for CO<sub>2</sub> legges til et såpass lavt nivå som har vært antydnet for laks.

Det gjennomsnittlige nivået av CO<sub>2</sub> i norsk laksenæring ligger mellom 10-13 mg/l, med ekstremutslag opp mot 30 mg/l. Grenseverdiene der enkeltindivider kan få problemer har i enkelte studier vist seg å kunne ligge så lavt som 10-12 mg/l i ionefattig bløtt norsk vann. Det er fullt mulig å komme ned mot dette nivået i CO<sub>2</sub>, men dette vil ha dramatiske konsekvenser for produktiviteten i anleggene. Ved hjelp relativt enkle regneøvelser i forhold til oksygenforbruk og CO<sub>2</sub>-produksjon kan man raskt illustrere at fisketetthet må reduseres kraftig og vanntilførsel økes kraftig for å komme under den foreslåtte grensen på 10 mg/l CO<sub>2</sub>. Tabell.16 nedenfor, som kun er ment for illustrasjonens skyld, viser hvordan dette ville kunne slå ut for laksefisk av ulik størrelse gitt samme temperatur 12 °C, vannstrøm 0,2 m/s, hydraulisk kapasitet 15 liter vann/m<sup>3</sup> karvolum/min.

Tabell 16 Tabellen illustrerer hva som ville kunne være krav til fisketetthet og vanntilførsel gitt at 10 mg/l CO<sub>2</sub> ikke skulle overskrides.

parameter	1g laks	10g laks	50g laks	100g laks	5000g laks
max fiske tetthet (kg/m <sup>3</sup> )	6	13,5	23	29	105
min spesifikt vannforbruk (l/kg/min)	2,5	1,1	0,6	0,5	0,14

Tabellen illustrerer et viktig prinsipp i forhold til det å holde oppdrettsfisk under en gitt terskel av en velferdsrelevant metabolitt, nemlig at fisketettheten kan økes etter som fisk vokser og at liten fisk må ha relativt mer vann per kg kroppsmasse enn stor fisk. De opprinnelige tabellene for vannbehov for laksefisk (Bergheim og Dahle, 1986) ble utarbeidet med tanke på å kunne opprettholde et minimum oksygenivå.

Det er imidlertid fullt mulig å løse inn relativt mye oksygen under trykk til oppdrettsvann. Dette har oppdrettsnæringen kunnet utnytte ved å erstatte det fiskeforbrukte oksygent med flytende oksygen. Man har derfor kunnet spare vann. For CO<sub>2</sub> er det foreløpig ikke mulig å oppnå tilsvarende suksess. Det beste utstyret for CO<sub>2</sub>-fjerning ligger bare på en virkningsgrad opp mot 40%. I praksis betyr dette at om vi setter en ny grense på CO<sub>2</sub> på omkring 10 mg/l så må de gamle vann-behovstabellene utarbeides på nytt med CO<sub>2</sub> som den begrensende faktor. Etter alt å dømme ville de også måtte økes.

Fra VK-undersøkelsene 2002- 2003 vet vi at de høyeste forekommende CO<sub>2</sub>-verdier i norsk settefiskproduksjon er i startfôringsfasen, dvs når fisken er mellom 0,05 og 30 gram. I denne fasen benyttes ofte økning av vanntemperaturen for å øke veksten. De fleste anlegg har klare begrensninger på varmekapasiteten og man vil lett kunne erfare at vannmengdene kan bli knepne med tanke på å opprettholde optimal veksttemperatur (12-14 grader). Man kan derfor få et omvendt proporsjonalt forhold, ved at man på den ene siden har en biomasse som produserer mer og mer CO<sub>2</sub> ammoniakk hver dag og en vannkilde som i forhold til biomassen er mindre og mindre i stand til å frakte bort disse avfallsstoffene. Velfredmessig mener vi derfor at fokus bør rettes mot de livsfasene der det benyttes oppvarmet vann og er begrenset plass. I tillegg er metabolismen kjent for å øke under smoltifiseringen av laksefisk. Dette har den konsekvens at kravet til vannmengder per kg fisk og/eller vannbehandling blir større i ukene før utsett av smolten. Ofte er dette sammenfallende med en periode med biomassetopp på settefiskanleggene.

Vi konkluderer videre med at de største velferdsmessige utfordringene for oppdrettsfisk ligger i dag i forbindelse med transport i lukket system. Dvs uten tilførsel av nytt frisk vann. Per i dag gjelder dette delvis ved frakt av settefisk fra landanlegg til merd, samt for matfisk som det er påvist sykdom på og for yngel som kjøres i bil. Ironisk nok er det den svakeste fisken som etter loven vil tilbyes den dårligste vannkvaliteten. Et bedre alternativ velferdsmessig ville være å slakte syk fisk på lokaliteten og unngå den vanskelige transporten. For å sikre bedre fiskevelferd i lukkede transporter må det utarbeides tabeller eller beregningsprogram for ulike transportbetingelser. Tillatt transportlengde og fisketetthet må avpasses i hvert enkelt tilfelle i forhold til slike veiledende tabeller. Det bør iverksettes arbeid for å få økt kunnskap om oksygenforbruk for de ulike artene under forskjellige operasjonelle betingelser. På denne måten kan man sikre at tabellene eller simuleringsprogrammene som utformes stemmer med virkeligheten. Fra praktisk erfaring opererer man innenfor en mulighetssone på 2-8 timer for laksefisk.

I motsetning til lukket transport, synes det ikke være noen klare indikasjoner på at velferden på grunn av vannkvalitet (til fisken som blir transportert) normalt sett er truet ved åpen transport i brønnbåt. Unntaket er ved inntak av kjemikalier eller ugunstig blandingskjemi i vannet som tas inn fiskebrønnen.

I en velferdsbetraktning er det også grunn til å rette fokus på anlegg med surt råvann (pH << 6,0) med potensielle problemer med metaller. Forståelsen for betydningen av disse prosessene er økende og lokaliteter som ligger i faresonen bør følges opp med vannprøver og gjelleprøver for å dokumentere om eventuell utfelling av metaller på

gjellene utover de anbefalte maksimalnivå oppstår. Det driftsmessige opplegget må også følges nøyer på slike anlegg da stor intensitetsgrad vil være mer problematisk.

Man har relativt liten kunnskap om vannkvalitet og velferdsindikatorer for de marine artene. Mye av studiene har vært rettet mot å fastslå toksiske nivå. Tetthet ser imidlertid ut til å ha ganske stor betydning for trivsel til oppdrettskveite. Likeledes tyder innledende studier av steinbit at denne er forholdsvis robust mot vannkvalitetsendringer assosiert med intensiv drift.

Oksygen er den parameteren med størst velferdsmessig relevans for alle oppdrettsartene. Et minimumsnivå i oppdrett rundt 60% synes forholdsvis unisont og må søkes tilstrebes, men nyere kunnskap om betydningen av for høyt oksygennivå antyder at det og kan være en øvre grense omkring 120-140% metning. Oksygen er den parameteren som i all hovedsak regulerer pustefrekvensen for fisk. Et høyt oksygennivå vil derfor kunne påvirke utskillelsen av avfallsstoffet over gjellene. Det er velferdsmessig meget viktig å få avklart hva som skjer i kombinasjoner av høyt oksygeninnhold (hyperoksi) og høyt CO<sub>2</sub> innhold (hypercapnia). Dette gjelder alle artene, selv om problemene ser ut til å være størst i ferskvann.

For oppdrettsaktivitet i merder i sjøen vil man best sikre dyrevelferden ved å sørge for opprettholdelse av god geometri og renhet (vanngjennomstrømming) på nota. Tilsats av flytende oksygen i moderate mengder har avdekket i praksis at oksygen først og fremst er den faktoren som har betydning for dyrevelferden og som blir først begrensende rent vannkvalitetsmessig. Det mangler likevel en del kunnskap om vannkvaliteten i tettere fiskelag.

Ved oppdrett i merd er det viktig å ha god plass og at fisken får tilgang til å tilpasse seg endringer i temperatur og salinitet i overflatelagene. Det kan oppnås ved å benytte dype merder. Et eksempel på en slik tilpasning er torsk som søker ned på dypet når temperaturen i overflatelaget på varme sommerdager overstiger 20<sup>0</sup>C.

Gjennom en rekke vitenskapelige forsøk har en sett at de fleste artene har evne til å tilpasse seg endrede miljøbetingelser som lave oksygenverdier, økt mengde av ammoniakk, endringer i salinitet og tilpasning til høye og lave temperaturer. Dersom slike miljøendringer skjer raskt vil de fleste artene få problemer, enten ved redusert appetitt, økt stress, som igjen kan gi redusert tilvekst og økt dødelighet. Når endringene skjer over tid, kan de fleste artene tilpasse seg miljøforandringen uten at dette reduserer tilvekst og adferd. Slike endringer kan kun registreres ved kontrollerte langtidsforsøk. Slike forsøk vil endre gjeldene toleranseverdier. Derfor er det viktig å vite under hvilke betingelser man registrerer tilvekst, stress, dødelighet etc. Det finnes betydelige endringer mhp toleranse innen samme art, avhengig av om man f.eks sammenligner fjordtorsk med skrei eller torsk fra Østersjøen, eller laks oppdrettet i ulike deler av Norge og laks fra andre land.

Man har relativt liten kunnskap om hvor lenge en oppdrettsfisk kan ligge tørrlagt i åpen luft. Men man har vist at 20 minutters lufteksponering vil kunne være dødelig, og at selv eksponering på 30-45 sekunder vil kunne forårsake klare økninger i stresshormonet cortisol og restitueringsstid på ett til flere døgn. Et relativt nytt arbeid på piggvar viste at denne arten er svært tolerant til lufteksponering. Fisken ble holdt ute av vannet i 20 minutter, og stressresponsene ble undersøkt. Resultatene viste

minimale fysiologiske forstyrrelser, men at de var noe mer tydelige på fisk som gikk på 22°C enn på 16°C, og også mer uttalt på fisk som hadde opplevd matmangel. Også andre forsøk med piggvaryngel har vist at de kan overleve lenge ut av vannet så lenge de beskyttes mot direkte uttørking.

Ved bedøvelse av fisk synes de mest velferdrelevante parameterne være innsovning og oppvåkningstid. Det tar normalt sett 2-5 minutter å oppnå anestesi med de ulike midlene som kan brukes. Den vanligste komplikasjon av anestesi er oksygenmangel med påfølgende syrerbaseforstyrrelse. Dette må motvirkes ved innbobling av luft og eller ved bruk av vedlikeholdsbedøvelse, dvs så svak dose at fisken har pustefrekvens men ikke våkner. Fra stikkvaksinering av fisk i oppdrettsnæringen har man også erfart at bruk av skyllekar etter bedøvelseskar senker risiko for komplikasjoner ved at oppvåkningstiden. Vannkvaliteten i bedøvelseskar kan og være grunn til å følge med da både CO<sub>2</sub>, TOC og ammoniumnitrogen vil akkumuleres.

Anbefalingene fra Europarådet for laks virker i hovedsak fornuftige. Artikkel nr 16 a anbefaler at syk eller svak fisk ikke skal transporteres. Dette er en relativt dramatisk omlegging som for så vidt er fornuftig ut i fra problemene med dyrevelferd i lukket transport. Men man må da organisere avlivning på lokaliteten på en sikker måte. Våre innvendinger i forhold til CO<sub>2</sub> er nevnt tidligere. Vi vil også bemerke at grenseverdiene for ammoniakk er satt svært lavt og nært et optimum av det som er mulig å oppnå. For øvrig viser vi til våre kommentarer i tabell 15.

## Referanser

- Ackerman, P.A., R.B. Forsyth, C.F. Mazus & G.K. Iwama. 2000. Stress hormones and the cellular stress response in salmonids. *Fish. Physiol. Biochem.* 23:327-336.
- Barlaup, B.T. og Å. Åtland. 1990. Merking og bedøving av fisk – en statusrapport. Forskningsprogram om fiskeforsterkningstiltak i norske vassdrag. Rapport nr. 1. ISBN 82-7216-587-2.
- Barton, B.A. & C.B. Schreck. 1987. Influence of acclimation temperature on interregional and carbohydrate stress responses in juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture* 62:299-310.
- Barton, B.A., C.B. Schreck & L.A. Sigimondi. 1986. Multiple acute disturbances evoke cumulative physiological stress responses in juvenile Chinook salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.* 115:245-251.
- Barton, B.A., C.B. Schreck & L.D. Barton. 1987. Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress on growth, physiological conditions, and stress responses I juvenile rainbow trout. *Dis. Aq. Org.* 2:173-185.
- Bernstein, P.S., K.B. Digre & D.J. Creel. 1997. Retinal toxicity associated with occupational exposure to fish anesthetic MS-222. *Am. Journal of Ophthalmology* 124: 834-843.
- Bjerknes, V., Fyllingen, I., Holtet, L., Teien, H.C., Rosseland, B.O. and Kroglund, F. (2003) Aluminium deposition and mortality in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in estuarine waters. *Marine Chemistry (Special Issue)*. *Accepted*.
- Boeuf, G., T. Boujard & J. Person-Le Ruyet. 199. Control of the somatic growth in turbot. *J. Fish Biol.* 55 Suppl. A: 128-147.
- Brauner, C.J. 1999. The effect of diet and short duration hyperoxia exposure on seawater transfer in coho salmon smolts (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture* 177, 257-265.
- Brauner, C.J., Seidelin, M. Madsen, S.S. and Jensen, F.B. (2000). Effects of freshwater hyperoxia and hypercapnia and their influences on subsequent seawater transfer in Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 57: 2054-2064.
- Brauner, C.J., Seidelin, M., Madsen, S.S. and Jensen, F.B. 2000. Effects of freshwater hyperoxia and hypercapnia and their influences on subsequent seawater transfer in Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic science*, 57, 2054-2064.
- Broom DM. Indicators of poor welfare. *Br. Vet J* 1986; 142: 524-6

## Referanser

Burka, J.F., K.L. Hammell, T.E. Horsberg, G.R. Johnson, D.J. Rainnie & D.J. Speare. 1997. Drugs in salmonid aquaculture – a review. *Journal of Veterinary Pharmacology and therapeutics* 20:333-349.

Bæverfjord, G., Espmark Wibe, Å., Rosseland, B.O., Kristensen, T., Salbu, B., Breck, O., Olsvik, P. & Stefansson, S. 2004. O<sub>2</sub>-overmetning. Fysiologi, helse og prestasjoner i sjøperioden. Havbruk 2004. Foredrag NFR Programkonferanse, Clarion Airport Hotell, Gardermoen 23-24 mars 2004, Abstract

Caldwell, C.A. and Hinshaw, J. 1994. Physiological and haematological responses in rainbow trout subjected to supplemental dissolved oxygen in fish culture. *Aquaculture* 126, 183-193.

Caldwell, C.A. and Hinshaw, J. 1995. Tolerance of rainbow trout to dissolved oxygen supplementation and a *Yersina ruckeri* challenge. *Journal of Aquatic Animal Health*. 7, 168-171.

Ceccini, S. and Caputo, A.R. 2003. Acid-base balance in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) in relation to water oxygen concentration. *Aquaculture Research*, 34, 1069-1073.

Ceccini, S. and Saroglia, M. 2002. Antibody response in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) in relation to water temperature and oxygenation. *Aquaculture Research*, 33, 607-613.

Chabot, D., Dutil, J.D. 1999. Reduced growth of atlantic cod in non-lethal hypoxic conditions. *J. Fish, Biol.* 55, 472-491

Colt, J., Orwicz, K. and Bouck, G. 1991 Water quality criteria for high density fish culture. *Aquaculture Eng.* 7: 397-441.

Cooke, S.J., K.G. Ostrand, C.M. Bunt, J.F. Schreer, D.H. Wahl & D.P. Philipp. 2003. Cardiovascular responses of largemouth bass to exhaustive exercise and brief air exposure over a range of water temperatures. *Trans. Am. Fish. Soc.* 132:1154-1165.

Dabrowski, K., Lee, K-J., Guz, L., Verlhac, V. and Gabaudan, J. 2004. Effects of dietary ascorbic acid on oxygen stress (hypoxia or hyperoxia), growth and tissue vitamin concentrations in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 233, 383-392.

Davis, M.W. & S.J. Parker. 2004. Fish size and exposure to air: Potential effects on behavioural impairment and mortality rates in discarded sablefish. *North Am. Journ. of Fisheries Management.* 24:518-524.

Dawson, V.K. & P.A. Gilderhus. 1979. Ethyl-p-aminobenzoate (benzocaine): efficiency as an anesthetic for five species of freshwater fish. *U.S. Fish and Wildlife Serv. Invest. Fish Control*

Edsall, D.A. and Smith, C.E. 1990. Performance of rainbow trout and Snake River

## Referanser

- cutthroat trout reared in oxygen-saturated water. *Aquaculture* 90, 251-259.
- Falk-Petersen, I.B., Foss A.B., Tveiten, H., Espelid, S. Andreassen, I. 2003. Flekksteinbit i oppdrett – status og utfordringer. Havbruksrapport 2003
- Fandrey, J., Frede, S. and Jelkmann, W. 1994. Role of hydrogen peroxide in hypoxia-induced erythropoietin production. *Biochemical Journal* 303, 507-510.
- Fivelstad, S., Bergheim, A., Kløften, H., Haugen, R., Lohne, T., Olsen, A.B.. Water flow requirements in intensive production of Atlantic Salmon
- Foss A., B.A. Røsnes, & V. Øiestad. 2003. Graded environmental hypercapnia in juvenile spotted wolffish (*Anarhicas minor* Olafsen): effects on growth, food conversion efficiency and nephrocalcinosis. *Aquaculture* 220: 607-617
- Foss A., S.I. Siikavupio, B.S. Sæther, T. Evensen. 2004 Effects of chronic ammonia exposure on growth in juvenile. *Aquaculture* (In print)
- Foss A., T. Vollen, V. Øiestad. 2003. Growth and oxygen consumption in normal and O<sub>2</sub> supersaturated water, and interactive effects of O<sub>2</sub> saturation and ammonia on growth in spotted wolffish (*Anarhicas minor* Olafsen). *Aquaculture* 224: 105-116
- Foss A., T.H. Evensen & V. Øiestad. 2002. Effects of hypoxia and hyperoxia on growth and food conversion efficiency in the spotted wolffish *Anarhicas minor* (Olafsen). *Aquaculture Research* 2002, 33:437-444
- Foss A., T.H. Evensen, A.K. Imsland and V. Øiestad. 2001. Effects of reduced salinities on growth, food conversion efficiency and osmoregulatory status in the spotted wolffish. *J. Fish Biol.* 59: 416-426.
- Foss, A., Vollen, T. and Øiestad, V. 2003. Growth and oxygen consumption in normal and O<sub>2</sub> supersaturated water, and interactive effects of O<sub>2</sub> saturation and ammonia on growth in spotted wolffish (*Anarhicas minor* Olafsen). *Aquaculture* 224, 105-116.
- Foss, T.H. Evensen, T. Vollen, V. Øiestad. 2003. Effects of chronic ammonia exposure on growth and food conversion efficiency in juvenile spotted wolffish. *Aquaculture* 228: 215-224
- Gensemer R.W. and Playle R.C. (1999): The bioavailability and toxicity of aluminium in aquatic environments. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 29(4) 315-450
- Girard J.P and P. Payan (1980) Ion exchange through respiratory and chloride cell in freshwater – and seawater –adapted teleostans. *Am. J. Physiol.* 238, R260-R268
- Hansen, L.P. & B. Jonsson. 1988. Salmon ranching experiments in the river Imsa: Effects of dip-netting, transport and chlorobutanol anaesthesia on survival.



## Referanser

Aquaculture 74:301-305

Hansen, M.K., U. Nymoen, og T.E. Horsberg. 2004. Pharmacokinetics and pharmacodynamic properties of metomidate in turbot (*Scophthalmus maximus*) and halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Journal of Veterinary Pharmacology and therapeutics 26:95-103.

Horsberg, T.E. & T. Høy. 1989. Medikamenter til fisk. Farmakologi og farmakoterapi. Norsk Veterinærtidsskrift. 101: 497-510.

Imsland, A.K, Jonassen, T.M, Steffansson, S.O., Shusaku, K, Berntsen, M.H.G. Intraspecific Differences in Physiological Efficiency of Juvenile Atlantic Halibut *Hippoglossus hippoglossus* L. Journ. of WACS, vol 31, No 3, sept 2000.

Iwama, G.K., J.C. McGeer & M.P. Pawluk. 1989. The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. Can. J. Zoology. 67:2065-2073.

Jobling, M. 1988. A review of the physiological and nutritional energetics of cod, *Gadus morhua* L., with particular reference to growth under farming conditions. Aquaculture 44, 83-90.

Johansson, N. 1978. Chlorbutol (1,1,1 –trichloro-2-metyl-propanol-(2)) som bedøningsmedel vid mærkning av laxungar. . Laxforskningsinstituttet Meddelande 1978:6.

Jonassen, T.M., Imsland, A.K., Steffansson, S.O. 1999 The interaction of temperature and fish size on growth of juvenile halibut. Jour. Fish. Biol. (1999), 54, 556-572.

Kelly, S.A., Havrilla, C.M., Brady, T., Abramo, K.H. and Levin, E.D. 1998. Oxidative stress in toxicology: established mammalian and emerging piscine model systems. Environmental Health Perspectives, 106, 375-384.

Kiessling, A., R.E. Olsen & L. Buttle. 2003. Given the same dietary carotenoid inclusion, Atlantic salmon, *Salmo salar* (L.) display higher blood levels of canthaxanthin than staxanthin. Aquaculture Nutrition 9: 253-261.

Knoph, M.B. (1995) Toxicity of ammonia to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) Dr. Scient. Thesis. Dep. Fish. and Marine Biol. University of Bergen, Norway.

Knoph, M.B. 1996 Gill ventilation frequency and mortality of atlantiv salmon (*Salmon Salar* L.) exposed to high ammonia levels in seawater. Wat. Res. Vol 30, No 4, pp 837-842

Lambert, Y., Dutil J.D., 2001. Food intake and growth of adult Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) reared under different conditions of stocing density, feeding frequency and size-grading. Aquaculture 192 (2001) 233-247

Larsen, B.K, Pörtner, H.O., Jensen, F.B. Extra- and intracellular acid-base balance

## Referanser

and ionic regulation in cod (*Gadus morhua*) during combined and isolated exposures to hypercapnia and copper. 1997. *Marine Biology*: 337-346.

Legemiddelforeningen. 2004. Tall og fakta 2004. Legemidler og helsevesen. ISSN 1503-352X

Legemiddelforeningen. 2004. Tall og fakta 2004. Legemidler og helsevesen. ISSN 1503-352X.

Li, H.W., Brocksen, R.W., 1977 Approaches to the analysis of energetic costs of intraspecific competition for space by rainbow trout (*Salmo gairdneri*) *J. Fish. Biol.* 11,329-341

Liao,P.B., 1971 Water requirements for salmonids. *Progressive Fish-Culturist* 33 210-215

Lygren, B., Hamre, K. and Waagbø, R. 2000. Effect of induced hyperoxia on the antioxidant status of Atlantic salmon *Salmo salar* L. fed three different levels of dietary vitamin E. *Aquaculture Research* 31, 401-407.

Marking, L.L. og F.P. Meyer. 1985. Are better anaesthetics needed in fisheries ? *Fisheries* 10: 2-5.

Massabuau, J.C. 2003. Primitive, and protectice, our cellular oxygenation status?. *Mechanisms of Ageing and Development* 124, 857-863.

Mattson, N.S. & T.H. Riple. 1989. Metomidate, a better anesthetic for cod (*Gadus morhua*) in comparison with benzocaine, MS-222, chlorobutanol, and phenoxyethanol. *Aquaculture*: 83:89-94.

Næss, A. (1993) Oksygenforbruk og ammoniakkekresjon hos torsk (*gadus morhua*) – effekt av kroppsvekt, temperatur og fôring. pp.52. Universitetet I Trondheim. Norway.

Olsen, Y.A., I.E. Einarsdottir & K.J. Nilssen. 1995. Metomidate anesthesia in Atlantic salmon, *Salmo salar*, prevents plasma cortisol increase during stress. *Aquaculture*: 134: 155-168.

Olsvik, P.A., Berntssen, M., Kristensen, T., Bæverfjord, G., Rosseland, B.O. & Waagbø, R. 2004. Stress gene expression in Atlantic salmon *Salmo salar* measured by real-time PCR.

Poster. The XI International Symposium on Nutrition and Feeding in Fish, May 2 - 7, Phuket, Thailand.

Person-le Ruyet, J, Chartois, H, Quemer, L. 1995 Comparative acute ammonia toxicity in marine fish and plasma ammonia response. *Aquaculture* 136, (1995) 181-194.

Person-le Ruyet, J, Chartois, H, Quemer, L. 1995 Comparative acute ammonia

## Referanser

toxicity in marine fish and plasma ammonia response. *Aquaculture* 136, (1995) 181-194.

Person-Le Ruyet, J. Pichavant, K., Vacher, C., Le Bayon, N., Severe, A. and Boef, G. 2002. Effects of O<sub>2</sub> supersaturation on metabolism and growth in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) *Aquaculture* 205, 373-383.

Ritola, O., Livingstone, D.R., Peters, L.D. and Lindstrom-Seppa, P. 2002. Antioxidant processes are affected in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to ozone and oxygen-supersaturated water. *Aquaculture* 210, 1-19.

Rosseland, B.O. 1999. Vannkvalitetens betydning for fiskehelsen. I: Poppe, T. (red.) *Fiskehelse og fiskesykdommer*, s. 240-252. Universitetsforlaget AS, ISBN 82-00-12718-4.

Rosseland, B.O., I.A. Blakar, A.Bulger., F.Kroglund., A.Kvallestad., E.Lydersen., D.H.Oughton., B.Salbu., M.Staurnes, and R.Vogt. 1992. The mixing zone between limed and acidic river waters: complex aluminium chemistry and extreme toxicity for salmonids. *Environmental Pollution* 78: 3-8.

Rosten, T. 2001, Simulering av sannsynlig vannkvalitet under transport av ørretsmolt fra Danmark til Frankrike. Privat klient. Lukket.

Rosten, T., 2000. The evaluation of the cause of mortality during a 30h closed transport of smolt from Western Norway to Northern Norway, KPMG Centre for Aquaculture and Fisheries private client.

Rosten, T., 2000. The waterquality in 16 smolttransport in middle of Norway, a field study. KPMG Centre for Aquaculture and Fisheries Private clients

Rosten, T., Rosseland, B., Salbu, B., Kristensen, T., Åtland, Å., 2003. Rapportering av resultater fra VK 2002. Seminar for deltagere, kompendium. Lukket.

Rosten, Trond (2000) KPMG Centre for Aquaculture and Fisheries. The waterquality in 16 smolttransport in middle of Norway, a field study.

Rosten, Trond (2000) KPMG Centre for Aquaculture and Fisheries. The evaluation of the cause of mortality during a 30h closed transport of smolt from Western Norway to Northern Norway, private client.

Rosten, T., 2002. Simulering av vannkvalitet under transport. Privat klient. Lukket.

Saroglia, M., Ceccini, S., Terova, G., Caputo, A. and De Stradis, A. 2000. Influence of environmental temperature and water oxygen concentration on gas diffusion distance in sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Fish Physiology and Biochemistry* 23, 55-58.

Saroglia, M., Terova, G., De Stradis, A. and Caputo, A. 2002. Morphometric adaptations of sea bass gills to different dissolved oxygen partial pressures. *Journal of*

## Referanser

Fish Biology, 60, 1423-1430.

Scapigliati, G., Scalia, D., Marras, A., Meloni, M. and Mazzini, M. 1999. Immunoglobulin levels in the teleost sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) in relation to age, season, pflgkdfasløkgøalsdand water oxygenation. Aquaculture 174, 207-212.

Shurmann, H., Steffensen, J.F. lethal oxygen level at different temperatures and the preferred temperature during hypoxia of the Atlantic cod, *Gadus morhua* L.

SIFF, Statens institutt for folkehelse, Norsk forsøksdyrsentral. 1987. Sedasjon, anestesi og analgesi ved dyreforsøk. NF's publikasjon nr. 2, 1987:s. 171-176.

Smart, G. 1978. Investigations of the toxic mechanisms of ammonia to fish-gas exchange in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to acutely lethal concentrations. J. Fish. Biol. 12, 93-104.

Standing W.J.F., H.-C. Teien, M. Kroglund and B. Salbu. (2003) Remobilisation of river transported colloidal aluminium in estuaries and subsequent Al deposition onto fish gills.

Steibit nettverket 2001. Nyhetsbrev

Sørum, U. og B. Damsgård. 2004. Effects of anaesthisation and vaccination on feed intake and growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L). Aquaculture 232:333-341

Toften, H., Arnesen, A.M., Damsgård, B., Stefansson, S., Kristensen, T., Rosseland, B.O. og Lemarié, G. 2004. Intensivt oppdrett av lakse smolt: konsekvenser for laksens prestasjoner i ferskvannsfasen og etter overføring til sjø. Havbruk 2004. Foredrag NFR. Programkonferanse, Clarion Airport Hotell, Gardermoen 23-24 mars 2004, Abstract

U. S. EPA 1985, Ambient water quality criteria for ammonia-1984 EPA 440/5-85-001, Office of Water Regulations and Standards Division, Washington D.C.

U.S. EPA Ambient water quality criteria for ammonia (saltwater)-1989 EPA 440/5-88-004, Office of Water Regulations and Standards Division, Washington D.C.

Van Ham, E.H. 2003. The physiology of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* Rafinesque) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) under different stress conditions. Ph. D. thesis. University of Nijmegen 2003. ISBN 90-9016607-6.

Winter, U., Rosten, T, Rønning, J.E. Sandberg, M.G., Gjermundsen, A., KPMG 2003. Planmessig igangsetting av oppdrett av nye arter. Utredning for Fiskeridepartementet, 2003.

Wood, C.M. and Jackson, E.B. 1980. Blood acid-base regulation during environmental hyperoxia in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Respiration Physiology 42, 351-372.

## **Referanser**

Yin, M.C., Blaxter, J.H.S. 1987 Temperature , salinity tolerance and buoyancy during early development and starvation of Clyde and North Sea herring, cod, and flounder larvae

---