

Rapport

Effekt av sedasjon med Aqui-S under ferskvannsbehandling

*Forsøkskode SA-2017-01
Gjennomført ved Letsea AS - mai 2017*



Foto: www.letsea.no

1. Tittel

Effekt av sedasjon med Aqui-S under ferskvannsbehandling

2. Bakgrunn og formål

Behandling av laks mot lakselus ved opphold i ferskvann i brønnbåt benyttes i betydelig grad. Ferskvannsbehandling mot lus ble brukt på 948 lokaliteter i 2016 (Ref. www.barentswatch.no).

I noen tilfeller benyttes sedasjon med Aqui-S under oppholdet i brønnbåten. Dette gjøres for å redusere stressnivået, slik at oksygenforbruket og dermed CO₂-produksjonen reduseres. At sedasjon med Aqui-S har slik effekt under stresspåvirkning er vist tidligere i andre sammenhenger.

Hold av smoltifisert laks i ferskvann vil påføre fisken et osmotisk stress. Det er gjort få undersøkelser på dette, men blodprøver fra felt tyder på at kloridnivåene faller fra ca. 141 til ca. 124 mmol/l under opphold i ferskvann på mellom 5 og 8 timer. Stress, med økt blodgjennomstrømning over gjellene, er antatt å øke tapet av klorid herfra.

Formålet med forsøket var å undersøke om sedasjon under ferskvannsbehandling med moderat stresspåvirkning kan redusere stresset og kloridtapet og dermed øke sikkerheten ved slike behandlinger.

3. Identifikasjon av testsubstans

Testsubstans

Navn:	Aqui-S vet. (540 mg isoeugenol pr. ml.)
Produsent:	Aqui-S New Zealand Ltd.
Konsentrasjoner:	4 ml Aqui-S pr. 1000 liter, tilsvarende 2,16 mg isoeugenol pr. liter

4. Datoer

Forsøksdato: 16. mai 2017

5. Forsøkssted

LetSea AS - Landanlegget (RAS)

6. Ansvarlige personer

ScanAqua AS: Lars Speilberg
Mobil: 908 36 980
E-mail: lars.speilberg@scanvacc.com

LetSea AS: Daglig leder Kristian Johnsen
Forsøksstekniker Vebjørn Ulvang
Forsøksstekniker Kristian Nordøy

Rapporten er utarbeidet av Lars Speilberg

7. Materiale og metoder

7.1 Forsøksfisk og miljø

- Det ble benyttet 60 smoltifiserte, saltvannstilvendte laks (*Salmo salar L.*)
- Snittvekten på fisken var 362 gram
- Temperaturen var 6,5 °C
- Fisken ble sultet 2 døgn før forsøksstart

7.2 Identifikasjon/merking av fisk

Gruppene gikk adskilt under forsøket. Merking var derfor ikke nødvendig.

7.3 Fremgangsmåte

Forberedelser

Forsøksfisken ble satt i et felles holdekar med gjennomstrømning av saltvann (34 ‰ saltholdighet) for akklimatisering 11 dager før forsøksstart.

På forsøksdagen ble det klargjort 4 forsøkskar (kar A, B, C, D) som ble fylt med 90 liter ferskvann (uten gjennomstrømning).

Med 10 fisk pr. kar ble gjennomsnittlig tetthet 40 kg/m³.

Lavt vannivå og høy tetthet utgjorde en moderat stressor på fisken under forsøket, lik den fisk opplever under en ordinær ferskvannsbehandling.

Forsøkskar A og C ble deretter tilsatt 0,36 ml AQUI-S. Dette gir en dose på 4 ml AQUI-S pr. kubikkmeter.¹ Det ble laget stamløsning ved å riste AQUI-S i ca. 10 deler vann før tilsetning til karene.

Vannet ble oksygenert underveis slik at metningen hele tiden var > 84 %.

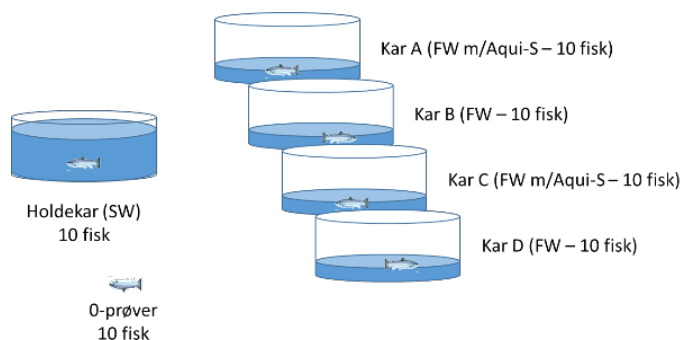
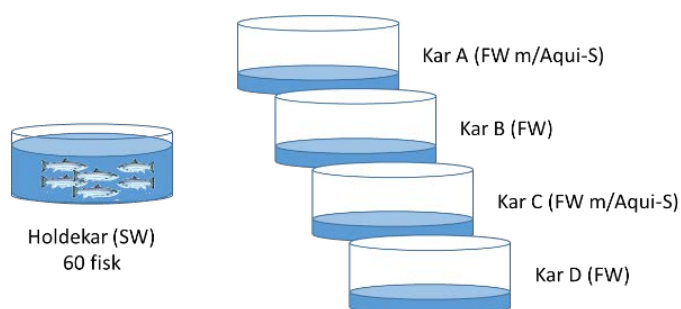
Forsøksgang

Det ble først håvet 10 fisk fra holdekarer til et separat kar med 90 liter saltvann tilsatt 0,45 gram Aquacalm² for uttak av nullprøver. Etter innsovning ble fisken avlivet, veiet og blodprøvetatt.

Umiddelbart etterpå ble det håvet 10 fisk til forsøkskar A, deretter 10 fisk til kar B, så 10 til kar C og til slutt 10 fisk til kar D. De siste 10 ble stående i holdekarer.

Etter 6 timers holdetid ble hvert av forsøkskarene tilsatt 0,45 gram Aquacalm. Etter innsovning ble fisken avlivet, veiet og blodprøvetatt.

Til slutt ble 10 fisk som hadde blitt stående i holdekarer med gjennomstrømning av saltvann håvet over til et separat kar med 90 liter saltvann tilsatt 0,45 gram Aquacalm³ for nullprøver. Etter innsovning ble fisken avlivet, veiet og blodprøvetatt.



¹ tilsvarende 2,16 mg isoeugenol/liter

² tilsvarende 5 mg metomidat/liter

³ tilsvarende 5 mg metomidat/liter

7.4 Registreringer og analyser

Følgende parametere ble registrert i forsøket:

1. Dødelighet
2. CO₂-nivåer
 - Start
 - 3 timer⁴
3. Blodverdier⁵:
 - Kortisol (stigning indikerer stress)
 - Klorid (fall indikerer osmotisk stress)
 - Laktat (stigning indikerer stress - særlig kortvarig)

8. Resultater

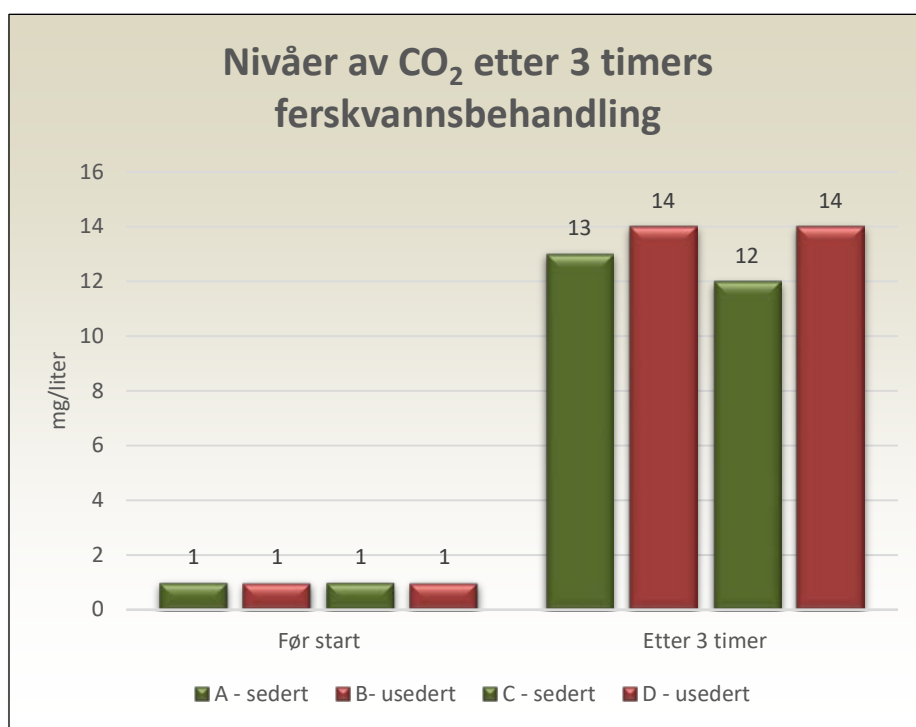
Det var ikke forskjeller av betydning i snittvekt mellom noen av gruppene. Fordelingen av fisk var m.a.o. tilfeldig.⁶

8.1 Dødelighet

Det var ingen dødelighet under forsøket.

8.2 Nivå av CO₂

Etter 3 timers opphold var gjennomsnittlig CO₂-nivå i de to sederte karene steget til 12,5 mg/liter, mot 14,0 mg/liter i de usederte kontrollkarene.



P-verdien for forskjellen mellom sederte og usederte kar var 0,095.

⁴ CO₂ ved avslutning var også planlagt, men kunne ikke gjennomføres for alle kar av praktiske årsaker

⁵ Analysert ved NTNU Ålesund

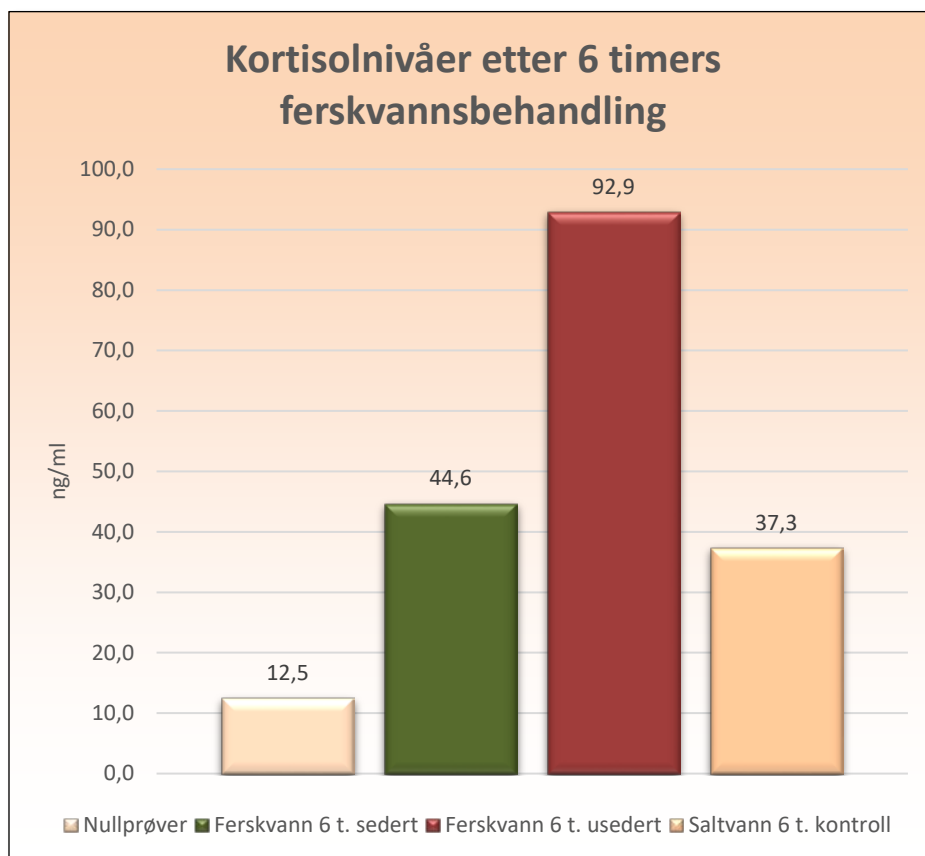
⁶ Se Tabell 1 for p-verdier

8.3 Blodverdier

Kortisol

Gjennomsnittlige kortisolverdier steg under behandlingen fra 12 mmol/L i nullprøvene, til 45 mmol/L i sederte kar og til hele 93 mmol/L i usederte kar.

Kontrollfisken som hadde blitt stående i saltvannskaret hadde et kortisolnivå på 37 mmol/L i snitt.



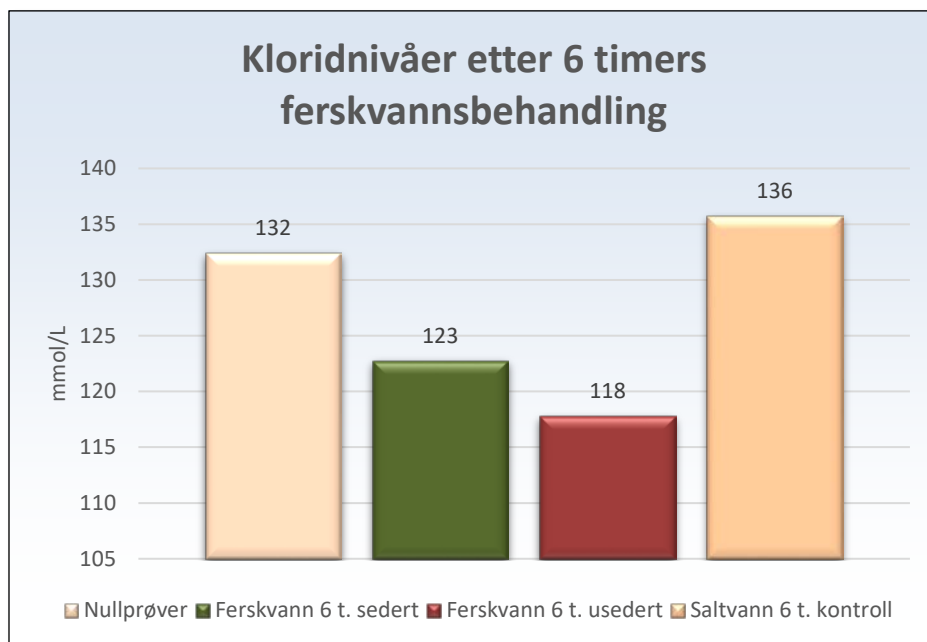
P-verdien for forskjellen mellom sederte og usederte kar var 0,024.⁷

⁷ Se Tabell 1 for p-verdier for øvrige sammenlikninger

Klorid

Gjennomsnittlige kloridverdier falt under ferskvannseksposeringen, fra 132 mmol/L i nullprøvene, til 123 mmol/L i sederte kar og 118 mmol/L i usederte kar.

Gjennomsnittlig klorid hos fisken som hadde blitt stående i saltvann hadde steget til 136 mmol/L.

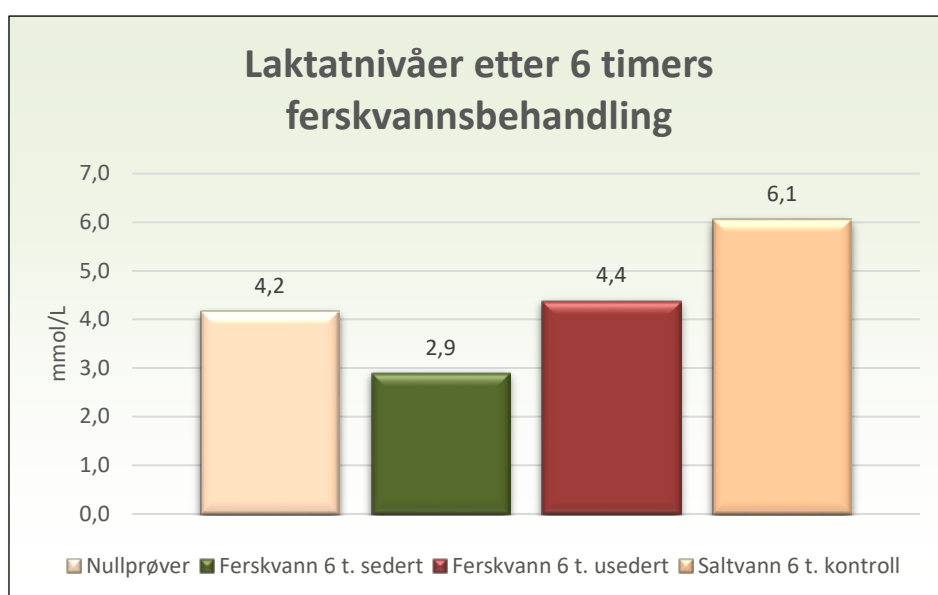


P-verdien for forskjellen mellom sederte og usederte kar var 0,056.

Laktat

Gjennomsnittlige laktatverdier for sedert fisk falt under ferskvannsbehandlingen fra 4,2 mmol/L i nullprøvene, til 2,9 mmol/L i sederte kar. I usederte kar steg laktat til 4,4 mmol/L.

Hos kontrollfisken som hadde blitt stående i saltvannskaret steg laktat til 6,1 mmol/L i snitt.



P-verdien for forskjellen mellom sederte og usederte kar var 0,009.

9. Konklusjoner

- Resultatene bekrefter antagelsen om at ferskvannsbehandling er stressende for fisken
 - kortisol stiger ($p=0,009$)
- Forsøket viser også at fisken taper salter under lang tids eksponering for ferskvann
 - klorid faller ($p=0,000$)
- Resultatene dokumenterer at sedasjon under ferskvannsbehandling reduserer stressreaksjonen
 - lavere kortisol på sedert fisk ($p=0,024$)
- Videre kan forsøket gi indikasjoner på at sedasjon også kan redusere tap av salter
 - høyere klorid på sedert fisk ($p=0,056$)
- Resultatene kan også indikere lavere oksygenforbruk på sedert fisk under stress
 - lavere CO₂-nivåer i sederte kar ($p=0,095$)

10. Kommentarer og diskusjon

Forsøket siktet mot å imitere stresset laksen blir utsatt for ved ferskvannsbehandling i brønnbåt. Dette i form av høy tetthet i lukket kar uten gjennomstrømming. Sannsynligvis ble stresspåvirkningen noe mildere enn under feltmessige forhold. Forskjellene kunne antagelig vært enda mer uttalte ved tøffere stress.

Nivå av CO₂

Det har lenge vært antatt at fisk sedert med Aqui-S er roligere og forbruker mindre oksygen under stress, og dermed produserer mindre CO₂. Dette er et av formålene ved å sedere. Resultatene her styrker denne antagelsen, selv om lite antall observasjoner (målinger i 4 kar) gjør funnene statistisk svake ($p=0,095$)

Kortisol

Kortisol er etablert som en god indikator på stress hos laks, både ved kortvarig, mellomlangt og kronisk stress. Store, statistisk sikre forskjeller i gjennomsnittlig kortisol mellom sedert og ikke-sedert fisk etter ferskvannsbehandling demonstrerer tydelig den stressreduserende effekten av Aqui-S.

Det er videre verdt å nevne at i tillegg til lavere snitt, er variasjonen i kortisol mellom fisk langt mindre i sederte grupper:

- I dette forsøket var standardavviket i sedert og usedert gruppe hhv. 25 og 88 nmol/ml
- Høyeste verdi i sedert gruppe var 101 nmol/ml mot 325 nmol/ml i usedert gruppe

Klorid

Eksponering av saltvannstilpasset fisk for ferskvann utgjør en osmotisk utfordring. Ioner som før har vært pumpet aktivt ut av fisken, tapes plutselig til vannet omkring. Det er tidligere vist at stress reduserer fiskens evne til osmoregulering.

Det er derfor ikke uventet at sedert fisk, med lavere kortisolnivåer, ser ut til å være bedre rustet til å beholde saltbalansen, med mindre tap av klorid til ferskvannet rundt. Usedert fisk har et gjennomsnittlig fall i kloridkonsentrasjonen på 14 mmol/L, mens sedert fisk mister i snitt 9 mmol/L. Forskjellene er relativt sikre statistisk, med $p=0,056$.

Laktat

Stigning i laktat er best egnet som indikator på stress ved kort og kraftig stresspåvirkning med samtidig høy svømmeaktivitet, som f.eks. ved pumping av smolt.

Rask og kraftig stigning i kortisol (og katekolaminer) mobiliserer store mengder glukose fra glykogenlagrene i muskler og lever. Samtidig høy fysisk aktivitet gir anaerob forbrenning av glukosen, og laktat hoper seg opp i blodet.

Ved mer langvarig, moderat stress er dette mindre uttalt. Glykogen brytes ned til glukose og forbrennes, men ikke raskere enn at forbrenningen skjer aerobt og fullstendig; til vann og CO₂.

Laktatverdiene er dermed dårlig egnet og vanskelig å tolke i dette tilfellet, hvor stresset varer så mye som 6 timer. Høyeste nivå ble faktisk registrert på den gjenstående fisken i holdekaret. Den var tidligere lite stresset, men ble til slutt i forsøket håvet over i liten tank, for deretter å bli avlivet for prøvetaking. Dette kortvarige stresset av fisk med fulle glykogenlagre forklarer antagelig de høye laktatverdiene i gruppen.

Selv om det er nærliggende å ta lavere laktatnivåer i sedert enn i usedert gruppe som ytterligere bevis på stressreduksjon, bør dermed disse forskjellene tolkes med forsiktighet.

Tabell 1. P-verdier (Students t-tester)

Vekt	Nullprøver	Ferskvann 6 t. sedert	Ferskvann 6 t. usedert
Ferskvann 6 t. sedert	0,87		
Ferskvann 6 t. usedert	0,59	0,43	
Saltvann 6 t. kontroll	0,14	0,12	0,30

Kortisol	Nullprøver	Ferskvann 6 t. sedert	Ferskvann 6 t. usedert
Ferskvann 6 t. sedert	0,001		
Ferskvann 6 t. usedert	0,009	0,024	
Saltvann 6 t. kontroll	0,035	0,483	0,066

Klorid	Nullprøver	Ferskvann 6 t. sedert	Ferskvann 6 t. usedert
Ferskvann 6 t. sedert	0,003		
Ferskvann 6 t. usedert	0,000	0,056	
Saltvann 6 t. kontroll	0,080	0,000	0,000

Laktat	Nullprøver	Ferskvann 6 t. sedert	Ferskvann 6 t. usedert
Ferskvann 6 t. sedert	0,054		
Ferskvann 6 t. usedert	0,661	0,009	
Saltvann 6 t. kontroll	0,000	0,000	0,002