

**Velferdsmessige
aspekter av fôrrestriksjon
for villfanget torsk**



Hovedkontor

Gaustadalléen 21
0349 Oslo
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 22 18 52 00
Internett: www.niva.no

Sørlandsavdelingen

Televeien 3
4879 Grimstad
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 37 04 45 13

Østlandsavdelingen

Sandvikaveien 41
2312 Ottestad
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 62 57 66 53

Vestlandsavdelingen

Postboks 2026
5817 Bergen
Telefon (47) 2218 51 00
Telefax (47) 55 23 24 95

NIVA Midt-Norge

Postboks 1266
7462 Trondheim
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 73 54 63 87

Tittel Velferdsmessige aspekter av forrestriksjon for villfanget torsk	Løpenr. (for bestilling) 5780-2009	Dato 19.02.08
	Prosjektnr. Undernr. O-27479	Sider Pris 60
Forfatter(e) Haugen, T.O., Knight, C., Rosten, T, Karlsson, A. Kristensen, T.	Fagområde Fisk og Akvakultur	Distribusjon Åpen
	Geografisk område Norge	Trykket NIVA

Oppdragsgiver(e) Fiskeri og havbruksnæringens forskningsfond	Oppdragsreferanse O-27479
---	------------------------------

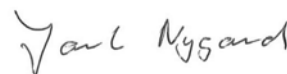
Sammendrag

NIVA har i perioden januar 08 til desember 08 utført en studie av noen velferdsmessige aspekter av forrestriksjon for villfanget loddetorsksom som settes til oppføring eller levende lagring uten føring. Forskningen er utført på oppdrag for Fiskeri og Havbruksnæringens Forskningsfond (FHF) og Råfisklaget. Resultatene viser at villfanget torsk adapterer seg til forrestriksjon og at torsken ser ut til å tåle fravær av mat i 16 uker ved 8–10 °C uten at dette medfører økt dødelighet, eller redusert evne til restitusjon når fisken får føde igjen. En gjennomgang av vitenskapelig litteratur viser at torskefisk har gode fysiologiske forutsetninger for å tilpasse seg perioder med lite eller ingen mat. Litteraturen viser også at den har god evne til å gjenvinne både muskelmasse og energilagere når den tilbys føde igjen. Vårt forsøk indikerer at likevel at forrestriksjon medfører et visst stress for torsk. Fravær av mat medfører at det etter noen uker oppstår forskjellige nivå av plasma ioner og blodsukker i forhold til torsk som tilbys mat. Forskjellene er imidlertid små og gjenopprettes raskt når reføring startes etter 12 uker, men disse funn peker i retning av noe stress, selv om stresshormonivå (plasma kortisol) ikke øker med tid uten mat. Leverlagrene ser ut til å fylle seg betydelig etter 4 uker med reføring. Det samme gjelder gjenvinning av kroppsvekt. Måling av leverbredde ved hjelp av ultralyd ser ut til å være en lovende ny "ikke-dødelig" teknikk for evaluering av leverlagre i forbindelse med vurdering av fiskens tilstand under forrestriksjon. Det er ikke tydelige tegn til at forrestriksjon gir forstyrrelse i fiskens mulighet for å opprettholde god fysiologisk likevekt med tanke på blod pH eller blodgasser. Resultatene viser imidlertid at det ble påvist mer jagingsadferd i gruppen med forrestriksjon, men dette medførte ikke økt dødelighet sammenlignet med torsk som fikk før. Fisken som ble brukt i dette forsøket hadde en del fysiske skader, som den hadde med seg inn i oppdrettsanlegget. Forsøkene viser at velferd hos vill loddetorsk (1-8 kg) som settes til oppføring er påvirket slike skadetyper. Vi har grunn til å tro at dette er skader som stammer fra fangst og ombordtaking. Typisk er dette skader på øyne, brystfinner, hud, rygg og halefinner. Dette bør undersøkes nærmere i nye studier. Resultatene viser at når den villfangede torsken settes i et oppdrettskar, så vil skadene delvis repareres, uavhengig av om den får før eller ikke. Sårheling av særlig ryggfinner går imidlertid litt raskere for fisk som får før enn for fisk som sultes. Øyenskader ser i liten grad ut til å hele seg. Loddetorskens velferd etter innfangning og merdsetting kan problematiseres om man legger dagens vitenskapelige velferds litteratur til grunn. Problematiske felter er; forrestriksjon i perioder der fisken under naturlige forhold ville ha spist, redusert velferd forårsaket av sår fra fangst og ombordtaking, samt indikasjoner på økt osmotisk stress. Kvaliteten på fiskekjøttet ble imidlertid i liten grad påvirket av en 12 ukers forrestriksjonsperiode, slik at dette neppe kan benyttes som en velferdsindikator. Vurdering av det siste momentet er basert på resultater på fisk fra NIVA sitt forsøk, rapportert av Sintef fiskeri og havbruk

Fire norske emneord 1. Fiskevelferd 2. Fysiologi 3. Atferd 4. Torsk	Fire engelske emneord 1. Fish Welfare 2. Physiology 3. Behaviour 4. Cod
---	---



Forskningsleder



Fag- og markedsdirektør

Velferdsmessige aspekter av fôrrestriksjon for villfanget torsk

Forord

Norsk Institutt for vannforskning, seksjon for fiskeøkologi og akvakultur, har i perioden januar 08 til desember 08 utført forskning på noen velferdsmessige aspekter ved fôrrestriksjon for loddetorsk som settes til oppfôring eller levende lagring. Forskningen er utført på oppdrag for Fiskeri og Havbruksnæringens Forskningsfond (FHF) og Råfisklaget. Arbeidet er utført av et forskerteam bestående av Thrond Haugen, Carolyn Knight, Anders Karlsson, Torstein Kristensen, og undertegnede. I tillegg har teamet fått gode bidrag fra professor Anders Kiessling og professor Bjørn Olav Rosseland ved UMB. Samt UMB stipendiat Brankica Djordjevic, med analyser av plasmakortisol. Vi vil også takke Sirkulasjonsfysiologisk team på Aker Universitetssykehus for samarbeid på uttesting og bruk av ultralydteknologi ved *in situ* måling av leverstørrelse på loddetorsken. Resultantene fra ultralydstudien er inkludert i denne rapporten. Den eksperimentelle delen har foregått ved NIVA sin marine forskningsstasjon på Solbergstrand ved Drøbak. Loddetorsk fra Båtsfjordbruket ble transportert i spesialbil til NIVAs marine forskningsstasjon (MFS Solbergstrand). Vi takker transportør Jarle Tveiten for godt utført transportoppdrag. Vi ønsker i tillegg å takke driftsleder Oddbjørn Pettersen og hans medarbeidere for all bistand med etablering av forsøkskar, teknisk oppsett og røkting av fisk.

Prosjektet har hatt en referansegruppe bestående av Gerd Kristoffersen, Råfisklaget, Arne Karlsen, Gunnar Klo AS, Jan Henrik Sandberg, Fiskarlaget, Anne B Osland, Fiskeridirektoratet, samt Bente Bergersen, Mattilsynet. På vegne av NIVA ønsker jeg å takke medlemmene av referansegruppen for verdifulle bidrag gjennom prosjektperioden. Jeg vil også takke Hanne Digre fra Sintef Fiskeri og Havbruk for utmerket samarbeid omkring vurdering av produktkvalitet på forsøksfisken. Dette samarbeidet gjorde at man etter min mening fikk ekstra mye ut av forsøket. Resultatene fra SINTEF sin vurdering av produktkvalitet er presentert i egen SINTEF rapport (SFH80 A085052). Resultatene fra NIVA sitt forsøk er presentert i denne rapporten. Vi håper og tror at rapporten vil komme til nytte for både forvaltning og industriaktører. Kunnskapen om velferd hos villfanget loddetorsk er ennå ikke komplett, men vi mener at rapporten tilfører ny verdifull vitenskapelig dokumentasjon til tematikken.

Resultatene fra forsøket vil bli søkt publisert i internasjonale tidsskrift med refereebehandling, og må av denne grunn ses på som foreløpige. Det var utrykt et ønske fra oppdragsgiver om at metodikk for evaluering av fangst/ombordtakingsskader skulle utformes og inkluderes i rapporten. Vi henviser her til metodekapittel, samt bildeserier med klassifiseringsskala, som er gjengitt som vedlegg.

Tilslutt vil jeg takke FHF og Råfisklaget for prosjektsamarbeidet og håper vi kan være til nytte ved senere anledninger på dette eller andre relevante tema.

Trondheim/Oslo, 15.mai 2008

Trond Rosten
forskningsleder

Innhold

1. Sammendrag	6
2. Summary	7
3. Innledning	8
3.1 Bakgrunn	8
3.2 Formål med prosjektet	9
4. Materiale og metoder	11
4.1 Generelt	11
4.2 Litteraturstudie	11
4.3 Fysiologiske metoder	12
4.3.1 Kannuleringsforsøket	12
4.3.2 Om kannuleringen	12
4.3.3 Måling av fysiologiske variabler	13
4.3.4 Hormonmålinger	13
4.4 Effektstudie (gruppestudie)	13
4.4.1 Forsøksoppsett	13
4.4.2 Håndtering av dyrene ved målingsuttak	15
4.4.3 Måling av adferd	15
4.4.4 Måling av leverstørrelse ved hjelp av ultralyd	15
4.4.5 Måling av sårheling	18
4.5 Statistikk	18
4.5.1 Statistiske modeller	18
4.5.2 Presentasjon av resultatene	18
5. Resultater	19
5.1 Litteraturstudiet	19
5.1.1 Introduksjon	19
5.1.2 Fysiologiske effekter av sulting av torsk	20
5.1.3 Fysisk prestasjonsevne	22
5.1.4 Atferdsmessige effekter av sulting	22
5.1.5 Opp-føring (re-føring)	22
5.2 Velferdskonsekvenser av sulting	22
5.3 Fysiologi hos torsk under ulike behandlinger – litteraturverdier	22
5.4 Kanuleringsforsøkene	22
5.4.1 Resultater	22
5.5 Effektstudien	22
5.5.1 Resultater	22
6. Diskusjon	22
6.1 Blodfysiologi	22
6.2 Stress	22
6.3 Vekst, kondisjon og lever	22
6.4 Atferd	22

6.5 Skader og overlevelse	22
6.6 Tema for videre forskning	22
7. Konklusjon	22
8. Referanser	22
9. Vedlegg	22

1. Sammendrag

Resultater gjengitt i denne rapporten viser at villtorsk (torsk) adapterer seg godt til fôrrestriksjon og at torsken ser ut til å tåle fravær av mat i opptil 16 uker ved 8–10 °C. En gjennomgang av vitenskapelig litteratur viser at torskefisk har gode muligheter for å tilpasse seg perioder med lite eller ingen mat, samt har god evne til å gjenvinne både muskelmasse og energilager når den tilbys føde igjen. Våre forsøk viser at fravær av mat for torsk medfører noe forskjellige nivå av plasmationer og blodsukker når torsk som ble sultet i 12 ukers periode sammenlignes med torsk som ble føret. Forskjellene antyder at torsk som sultes får noen utfordringer med å opprettholde ionebalansen. Forandringene er imidlertid subletale. Likevekten, med tanke på disse fysiologiske responsene, gjenopprettes raskt når reføring startes etter 12 uker.

Leverlagrene, som falt dramatisk under 12 uker med sulting, fylte seg til før-sulting nivå etter 4 uker med reføring. Det samme gjaldt gjenvinning av kroppsvekt. Dette viser at torsken har en velutviklet evne til restitusjon når den tilbys fôr etter en sulteperiode. Det er ikke tydelige tegn til at fôrrestriksjon gir forstyrrelse i fiskens mulighet for å opprettholde god fysiologisk likevekt med tanke på pH eller blodgasser. Resultatene viser imidlertid at det ble påvist mer jagingsadferd i gruppen med fôrrestriksjon i opp mot 16 uker, men dette medførte ikke økt dødelighet sammenlignet med torsk som fikk fôr.

Fisken som ble brukt i dette forsøket hadde en del fysiske skader, som den hadde med seg inn i forsøksanlegget. Vi var ukjent med omfang og type av slike skader, men har fått melding om at dette kan variere. Det er sannsynlig at velferd hos vill loddetorsk (1–8 kg) som settes til oppføring er påvirket av disse skadene. Vi har grunn til å tro at slike skader sannsynligvis stammer fra fangst og ombordtaking. Typisk er dette skader på øyne, brystfinne, hud, rygg og halefinner. Dette bør undersøkes nærmere i nye studier. Resultatene viser at når den villfangede torsken settes i et oppdrettskar så vil skadene delvis repareres, uavhengig av om den får fôr eller ikke. Sårheling av særlig ryggfinner går imidlertid litt raskere for fisk som får fôr enn for fisk som sultes. Øyenskader ser imidlertid i liten grad ut til å hele seg.

Resultatene fra både studie av individuell fisk ("kannuleringsforsøket") og gruppeeksponering ("effektstudien"), viser at kortisolnivåene ikke øker over tid i noen av forsøksgruppene. Kortisolverdiene er generelt lave og dette indikerer at den ville torsken har tilpasset seg forsøksoppsettet, samt at sulting i 12 uker ikke medfører høy kortisolrespons. Dette er velferdsrelevant og kan tolkes i retning av at torsken har en god evne til å tilpasse en periode uten tilgang på føde. Det er imidlertid en tendens til at kortisolverdiene var noe høyere hos gruppene som ikke fikk fôr, enn for gruppene som fikk fôr. Forskjellene var ikke signifikante, men kan antyde en viss respons som er relatert til fravær av føde. Dette bør i så fall undersøkes nærmere ved verifikasjonsforsøk.

Loddetorskens velferd etter innfangning og merdsetting kan problematiseres om man legger dagens vitenskapelige velferdslitteratur til grunn. Problematiske felter er, fôrrestriksjon i perioder der fisken under naturlige forhold ville ha spist, redusert velferd forårsaket av sår fra ombordtaking fangstskader, samt indikasjoner på økt osmotisk stress.. Resultatene i både kannulerings- og effektstudien indikerer at restriksjon fra føring antydningvis lengre enn 4–6 uker ikke uten videre er forenlig med god velferd.

Kvaliteten på fiskekjøttet ble imidlertid i liten grad påvirket av en 12 ukers fôrrestriksjonsperiode, slik at dette neppe kan benyttes som en velferdsindikator. Denne vurderingen er basert på resultater på fisk fra NIVA sitt forsøk, rapportert av Sintef fiskeri og havbruk (SINTEF Fiskeri og Havbruk, rapport nr SFH80 A085052).

2. Summary

This report demonstrates that captured wild North Atlantic cod (*Gadus morhua*) adapt rapidly to experimental starvation conditions and also appear to tolerate absence of food during the 16 week experimental period at temperatures of 8–10 °C. Our work builds upon and confirms scattered findings in the literature that cod and other gadoids are well adapted to tolerate periods of absence of food. Further, cod seem to rapidly recover muscle mass and energy reserves when offered food after a period of feed restriction. In our experiments, where cod were starved over a 12 week period, we revealed some differences in blood plasma ions and glucose concentrations between groups of starved and fed cod. The differences, though they are minor, might indicate that food restriction challenged the osmoregulation of plasma ions. The responses are sub-lethal and do not cause increased mortality in the feed restricted groups.

Liver size responded dramatically to starvation where the starved group on average had liver sizes of less than 72% of that of the fed group after 8 weeks. Upon refeeding of starved cod, liver size recovered completely after four weeks. The same pattern was seen with total body mass. Our experiments provided no evidence that starvation affects the cod's pH and blood acid-base balance. Behavioural monitoring during the study period revealed a higher probability of chasing incidences in the starved group compared to the fed group. However, the total mortality was not different between the two groups over the experimental period. A report based on fish from this experiment showed that the meat quality was not significantly affected by the 12 week starvation period (SINTEF Fisheries and Aquaculture, SFH80 A085052). Hence, meat quality seems to be a poor indicator of animal welfare.

The fish used in this experiment had a high occurrence of physical damage and wounds before being introduced to the experimental tanks. We were not familiar with such damages, but personal communications from the industry seem to confirm that such damages may occur to a varying degree. Typically, wounds affected eyes, fins and skin. The wounds were most likely inflicted during the net-to-boat landing process. We emphasize that this should receive further attention in the future. Some damages were shown to heal during the course of the experiment. The healing process was to a small extent affected by the feeding treatment. Wounds on the dorsal fin, however, seemed to heal faster in the fed group. Eye damages did not heal.

The results from both individual studies (cannulated fish) and the group study demonstrated that plasma cortisol did not increase during the period of food restriction. The plasma cortisol levels were in general low. These results indicate that the wild cod, in terms of cortisol responses, adapts to the experimental set up and that exposure to 12 week feed restriction does not cause a cortisol stress response. This is welfare relevant and can be taken into account for the cod's good ability to adapt to a period with no food. There is however a tendency, though not significant, that cortisol levels were lower in fed fish than in feed-restricted fish. This indicates that there may be a cortisol response to feed restriction, but that this needs to be investigated in more depth and validated.

When exposed to the general animal welfare text book and scientific literature the whole process from cod landing and introduction to net cages faces significant challenges. In particular, aspects related to prevention of feeding under periods that the fish would otherwise feed and infliction of damage and wounds during the landing process seem particularly problematic in this context. The results from both cannulated fish and the group study indicate that restriction from food longer than 4-6 weeks is not in line with good welfare

Title: Animal welfare aspects related to feeding restrictions of captured wild Atlantic cod
Year: 2008 Author: Haugen, T.O., Knight, C., Rosten, T., Karlsson, A, Kristensen, T. Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN No.: ISBN 978-82-577- 5515-7

3. Innledning

3.1 Bakgrunn

Fiskerinæringen, FHF og Regjeringen har en felles målsetting om å utvikle fangstbasert akvakultur som en driftsform som øker verdien av tilgjengelig kvote. Både Stortingsmelding nr. 19 (2004 – 2005) om Marin næringsutvikling, Regjeringens felles plattform ("Soria Moria-erklæringen") og Regjeringens Ferskfiskstrategi vektlegger fangstbasert akvakultur som en nasjonalt viktig strategi for økt marin verdiskaping.

Fangstbasert akvakultur har lange tradisjoner i Norge. Næringen antas å ha et betydelig potensial for økt verdiskaping, særlig for mellomlagring og oppføring av villfanget torsk^{1, 2, 3}. Dette kan gi fortrinn i forhold til markedstilpasning, redusere usikkerhet knyttet til industriens tilgang til gode råvarer og bidra til å øke lønnsomheten ved produksjon av ferske fiskeprodukter. Også kortvarig mellomlagring (uten oppfôring) kan være aktuelt fordi det gir forbedret råstoffkvalitet.

For å få gode og stabile rammevilkår for den fangstbaserte næringa ble det innført et eget regelverk for fangstbasert akvakultur den 1. januar 2006. Både Norges Fiskarlag og flåteleddets villfiskforum har tidligere gitt innspill til FKD om utforming av dette regelverket. Begge uttaler at: *"I gjeldende regelverk begynner akvakulturregelverket å gjelde etter fire uker med mellomlagring. Dette medfører en kort frist for videresalg av fangsten, noe som bl.a. kan være ugunstig i forhold til prisfastsettelse"*.

Regelverket har vært gjeldende i snart to år, og Fiskeri- og kystdepartementet (FKD) sendte den 17. oktober 2007 et forslag til endring av dette regelverket på høring. Forslaget innebærer at mellomlagringsperioden for villfanget fisk, som holdes i merd før overføring til akvakulturanlegg, skal kunne utvides fra 4 til 12 uker (se: <http://www.regjeringen.no/nb/dep/fkd/dok/hoeringer/hoeringsdok/2007>). Hensikten med endringsforslaget er å gi næringsaktørene en større fleksibilitet med hensyn til sesongutjevning, samt bidra til å legge til rette for økt lønnsomhet også for den fangstbaserte næringen. Store deler av den fisken som fanges levende og holdes i mellomlagring, leveres til fiskeindustrien som ferskt råstoff. Ordningen har i praksis vist seg ikke å gi nødvendig fleksibilitet fordi aktørene har hatt behov for å holde fisken i mellomlagring ut over 4 uker av hensyn til stabile leveranser. De krav som gjelder for å ivareta fiskens velferd, samt sikre forsvarlig håndtering, skal videreføres. I tillegg opprettholdes kravet om at fisken skal tilbys før etter 4 uker.

Norges Fiskarlag støttet i sin uttalelse (datert 5. desember 2007) opp om dette endringsforslaget. Norges Fiskarlag registrerte samtidig at kravet om at fisken skal tilbys før etter 4 uker foreslås videreført. Fiskarlaget har tidligere gitt innspill om at tidspunkt for pålagt fôring bør gjøres mer fleksibelt, i samsvar med fiskens kondisjon/leverindeks, sjøtemperatur m.m., og det var aktuelt å gjennomføre ny forskning ang. dette. Norges Fiskarlag anmodet derfor Fiskeri- og kystdepartementet og Mattilsynet om samarbeid ved utforming og gjennomføring av et FOU-prosjekt om velferdsmessige aspekter for villtorsk ved varierende fôr-tilgang, samt at regelverket for fangstbasert akvakultur kan justeres videre i samsvar med ny kunnskap.

Prosjektet har vært godt forankret i både næringens og forvaltningens prioriteringer:

¹ Rapport fra arbeidsgruppe for vurdering av bruk av villfisk i marint oppdrett (Waage-utvalget). 2001

² Planmessig igangsetting av nye arter i oppdrett. KPMG Senter for akvakultur og Fiskeri. 2003

³ Fangstbasert akvakultur – Status, barrierer og potensial (Fiskeriforskning 2006)

1. **Villfiskforums handlingsplan for 2006 – 2007** (avsnitt 4.1) prioriterer et prosjekt som kan gi økt kunnskap om effekten av sulting av vill fisk, for bedre fiskevelferd og lønnsomhet i næringen, bl.a. i forhold til bedre fastsettelse av tidspunkt for fôring / overgang til akvakulturfasen.
2. **FHF's handlingsplaner for 2006 og for 2007** uttaler at kunnskapen om forholdet mellom fôr, fôringsrutiner og fiskevelferd er mangelfull, og at det er behov for å kartlegge eksisterende kunnskap samt å gjennomføre FoU-prosjekt for å øke kunnskapen om fôring ut fra ernæringsmessige behov, helse og velferd.
3. **Vitenskapskomiteen for mattrygghet** (VKM-rapport 04/801-9 - Vurdering av fangst og hold av villtorsk, datert 1. januar 2005) uttaler at: ”Foreløpige data tyder på at torsk er mer tilpassningsdyktig og robust enn mange andre arter, og at den relativt raskt tilpasser seg merdmiljøet. Det faktum at det er uvanlig å få stor torsk til å ta fôr før det er gått ca. fire uker, indikerer at det er behov for mer forskning omkring fysiske og psykiske akutt- og senskader av innfangning, slik som sulting og avvikende atferd i merder både hos torsk og hos andre aktuelle arter. Fisk sulter store deler av året og spiser tilsvarende mye når tilgjengeligheten er god. Det foreligger ingen metode eller empiri på velferdsrelevante fysiologiske parametere under sulting av torsk.
4. Rapporten **Fangstbasert havbruk – En utredning om fangst og hold av villtorsk og andre marine arter, velferd og risiko utredning** (datert 17. desember 2007) ble utarbeidet på oppdrag av Vitenskapskomiteen for mattrygghet. Denne rapporten konkluderer også med at det ikke foreligger noen metode eller empiri på velferdsrelevante fysiologiske parametere under sulting av torsk (refs.), og at det er et uttrykt forskningsmål å evaluere velferdsmessige utfordringer i forbindelse med sulting av fisk.
5. **Innovasjon Norge og Norges Forskningsråd** prioriterer i **Plan for koordinert satsing på torsk** (april 2006) bl.a. å utvikle operasjonelle velferdsindikatorer for oppdrett og oppfôring av torsk. Operasjonelle velferdsindikatorer for laksefisk, torsk, kveite, piggvar, leppefisk, krabbe og hummer i oppdrett er belyst av Rosten m.fl. 2007.

3.2 Formål med prosjektet

Prosjektet hadde som hovedmålsetting å undersøke og dokumentere velferd hos Atlantisk torsk (*Gadus morhua*) som respons på tilgang på fôr. Forsøkene skulle omfatte en periode på inntil 12 uker etter restituering. Etter 12 uker skulle man på basis av fremkomne resultater evaluere hvorvidt sulting av torsk utover 4 uker (alternativt et nærmere bestemt antall døgngrader) utgjør et dyrevelferdsmessig problem.

Dette skulle belyses på fire måter;

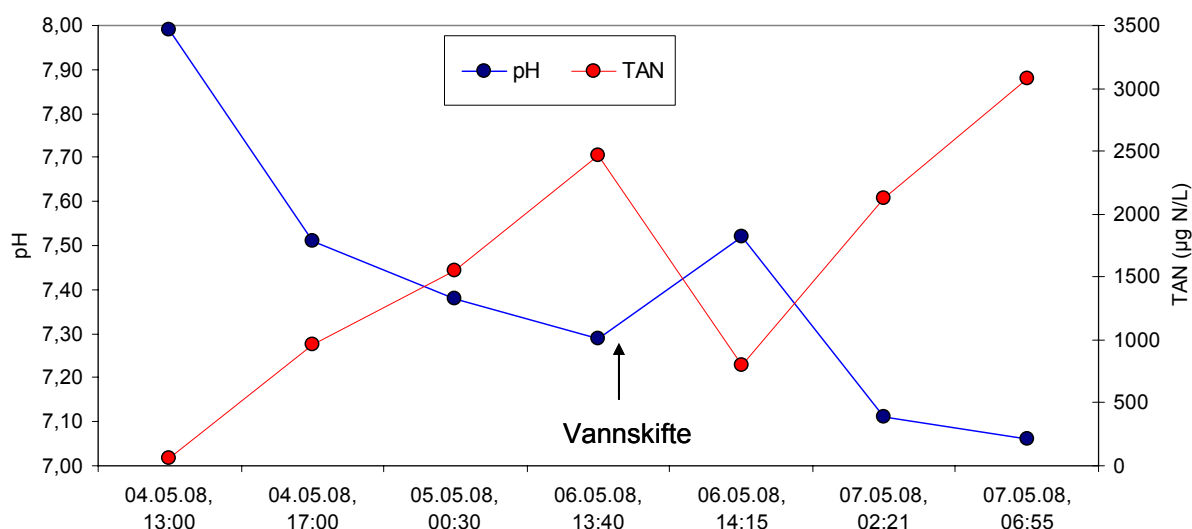
- A) Gjennomføre et litteratursøk over hva som allerede er kjent vedrørende velferd og sulting av torsk
- B) Undersøke fysiologiske velferdsfaktorer hos mellomlagret villtorsk som fôres / ikke fôres
- C) Observere velferdsrelevant adferd (aggresjon) hos villtorsk som fôres / ikke fôres

- D) Etter 12 uker med fôrrestriksjon ble det besluttet at halvparten av sultegruppen skulle tilbys fôr og sammenlignes med kontrollfisk som fikk forlenget fôrrestriksjonsperioden med fire uker. Dette for å se på mulighetene for restitusjon

4. Materiale og metoder

4.1 Generelt

Forsøket ble utført med vill loddetorsk som ble fanget den 21.04.2008 med snurrevad ved Båtsfjord (posisjon 70°45'588 Nord, 30°13'552 Øst). Fisken ble satt i merd ved Båtsfjordbruket og ble ikke tilbudt fôr før transporten. Fisken ble transporter ut fra Båtsfjord den 05.05.2008 med spesial bil og henger fra Jarle Tveiten Fisketransport AS. Sentrale vannkvalitetsparametre under transporten ble analysert av NIVA etter akkrediterte metoder (**Figur 1**. Tidsutvikling for vannkjemiske parametere under transport av torsk fra Båtsfjord til Drøbak.. Vannkvalitetsverdier ved ankomst den 07.05.2008 Solbergstrand var; total ammonium nitrogen (TAN): 3080 µg N/L, Total organisk karbon (TOC) 9 mg/l, pH 7,06, turbiditet: 5,72 FNU.



Figur 1. Tidsutvikling for vannkjemiske parametere under transport av torsk fra Båtsfjord til Drøbak.

Ved ankomst ble fisken fordelt i 4 stk 12 m³ oppdrettskar samt 30 stk i et samlekar for senere uttak til kanylering. Det ble ikke registrert unormal dødelighet under transporten. Etter en og en halv uke akklimatisering ble all fisk PIT-tag merket og fordelt med likt antall til hver av oppdrettskarene og tilbudt frossen lodde som fôr. Total biomasse ved start tilsvarte en tetthet på ca 20 kg/m³.

Vannutskiftningen var på 10 m³/h pr kar av sjøvann inntatt fra 60 meters dyp. Sjøvannet hadde en stabil temperatur på omlag 8 °C, vannet ble ikke oksygenert for å simulere en reell oppdrettssituasjon. Fra forsøksstart ble fisk i to av karene ble tilbudt fôr (5 kg blokk frossen lodde, annenhver dag), mens to av karene ikke fikk fôr. En liten andel av fisken ble kannulert og innsatt i individuelle kar for oppfølging av endringer i fysiologi under fasteperioden. Denne fisken ble heller ikke tilbudt fôr de første 12 ukene av forsøket. Fisken ble inspisert av MFS Solbergstrands tilsynsveterinær og det ble ikke påvist sykdom hos torsken før, under eller etter forsøksperioden..

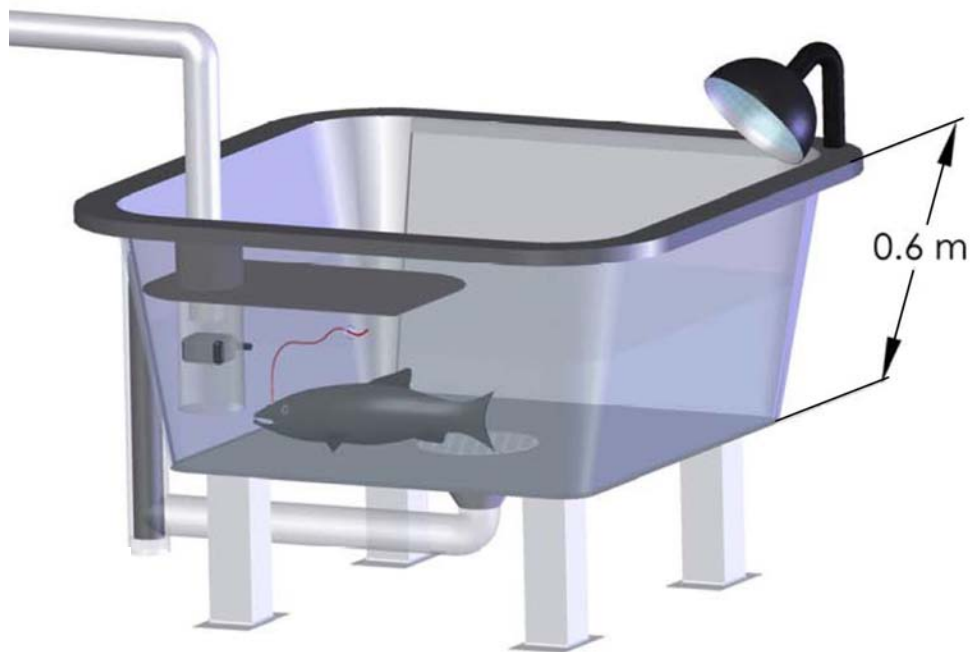
4.2 Litteraturstudie

Arbeidet ble utført ved søk i følgende vitenskapelige databaser CSA (Cambridge Scientific Abstracts), ISI (Institute for Scientific Information) og SWETSWISE. Et utvalg på 94 artikler ble fremskaffet gjennom å benytte ulike kombinasjoner av søkeordene: cod, Gadus morhua, starv*, feed*, interaction, behaviour, stress physiology.

4.3 Fysiologiske metoder

4.3.1 Kannuleringsforsøket

Ved starten av forsøket ble 8 loddetorsk kanulert i en av de to haleblodårene og satt i individuelle tanker uten tilgang på fôr. Samtidig ble resten av loddetorsken i beholdningskaret satt på sulting slik at all fisken ble sultet fra samme tidspunkt. Når det var nødvendig (ved frafall av fisk eller når katetrene ble tette eller løsnet fra fisken) ble torsk i forsøket erstattet med torsk fra beholdningskaret. Når beholdningskaret hadde gått tomt ble det tatt fisk fra sultegruppene i atferdsforsøket for å erstatte de tapte individene. Etter kanulering fikk torsk minst to døgn på å hente seg inn etter operasjon og bedøvelse før den ble prøvetatt, for å utelukke eventuelle stresseffekter av operasjonen og bedøvelsen. Det ble tatt blodprøver av fisken ukentlig, og katetrene ble i tillegg ”spylt” med saltløsning to ganger hver uke for å hindre koagulering av blod. Fisken ble først sultet i 12 uker, deretter ble torsk tilbudt fôr tre ganger ukentlig (mandag, onsdag, fredag) i fire uker.



Figur 2. Forsøkskar for kannulert fisk. Alle kar (totalt 8) var utstyrt med separat lyskilde, pumpe for opprettholdelse av strømbilde og deksel over 1/6 av karet. Vanntilførsel ble justert til 2 l/min i alle kar. Modifisert etter Kristensen m.fl. (2009)

4.3.2 Om kannuleringen

Ca 85 % i av fiskene ble kanulert i arterien, og disse fiskene står for ca 97 % av prøvene. Fisken ble håvet ut av beholdningskaret over i en balje med et sløvende middel (metomidat) for å hindre stress. Deretter ble fisken plassert i bedøvelseskar med 0,08 g/L metacain. Når fisken ikke lenger responderte på berøring ble den overført til operasjonsbadet, hvor gjellene ble kontinuerlig ventilert med kartemperert, luftmettet vann inneholdende 0,04 g/L metacain. Fisken ble plassert i en vugge hvor den lå under hele operasjonen, dekket med en våt klut. Der kateteret skulle gå gjennom huden ble fisken bedøvet med lokalbedøvelse (xylocain 10 mg/ml tilsatt adrenalin 5 mg/ml) før det ble laget et lite snitt i huden med en skalpell. Kateteret (polyetylen, ytre diameter ca 1 mm) ble ført inn i blodåren ved hjelp av en spisset stålstreng som ble trukket ut av kateteret når det var på plass inne i blodåren. Kateteret

ble så sydd fast til fisken med et enkelt sting og kateteret ble fylt med heparinisert fysiologisk saltløsning (150 IE/ml) for å hindre koagulering av blod i kateteret. Til slutt ble torsken plassert i et kar og overvåket til den fikk igjen balansen og svømte som normalt.

4.3.3 Måling av fysiologiske variabler

Blodprøver ble tatt av fisk fra begge forsøkene. I kannuleringsforsøket ble primært prøver fra arterielt blod tatt via kateter, mens prøver fra fisk i adferdsforsøket ble tatt av fisk som var håvet fra tankene og bedøvd. Fra denne fisken ble primært venøst blod prøvetatt med 1ml hepariniserte sprøyter. For begge forsøk ble det benyttet I-stat point-of-care analyseinstrumenter for å måle blodparametre. EC-8+ kassetter ble benyttet for målingene, og dette analyseoppsettet ga følgende parameterrekke: natrium (Na^+), kalium (K^+), klorid (Cl^-) glukose (Glu), Andel røde blodceller (hematokrit, Hct), partialtrykk av karbondioksyd (pCO_2), bikarbonat (HCO_3^-) og pH. Samlet sett gir disse parametrene en god oversikt over fiskens primære helsetilstand, dvs vann/ionebalanse, og syre-base balanse. Alle målte parametre kan karakteriseres som sekundære stressrespons-indikatorer, det vil si at de måler organismens fysiologiske og regulatoriske stressrespons. Både metodikken og måleparametrene er mye brukt innen både human og veterinærmedisin (Harrenstien et al, 2005; Jacobs et al., 1993; Pidetcha et al., 2000). pH, pCO_2 og HCO_3^- verdier ble korrigert for temperaturforskjellen mellom vannet fisken oppholdt seg i, og instrumentets oppgitte verdi ved 37 °C (Eliason et al. 2007).

4.3.4 Hormonmålinger

Plasmakortisol ble analysert med et radioimmunoassay kit (Orion Diagnostica, Espoo, Finland, Spectria Cortisol Ria test, se f eks. Kiessling et al., 2008). Spectria-kortisoltesten baserer seg på “competitive radioimmunoassay” prinsippet. En kjent mengde merket kortisol og en ukjent mengde av umerket kortisol blandes og disse vil konkurrere om et begrenset antall bindingssteder som finnes på en antistoffdekket hinne inne i Spectriarøret. Etter å ha skilt vekk ubundede antistoff vil en kunne estimere mengden merket kortisol i løsningen ved at denne er omvendt proporsjonal med mengden kortisol i løsningen. Konsentrasjonen av ukjent kortisol lar seg da beregne fra en standard kalibreringskurve. Intra- assay presisjon lå mellom 3,8 – 4,5 % og inter- assay presisjon lå mellom 4,3 – 5,5 %. Krysreaksjon med korticosterone var 2,8 %.

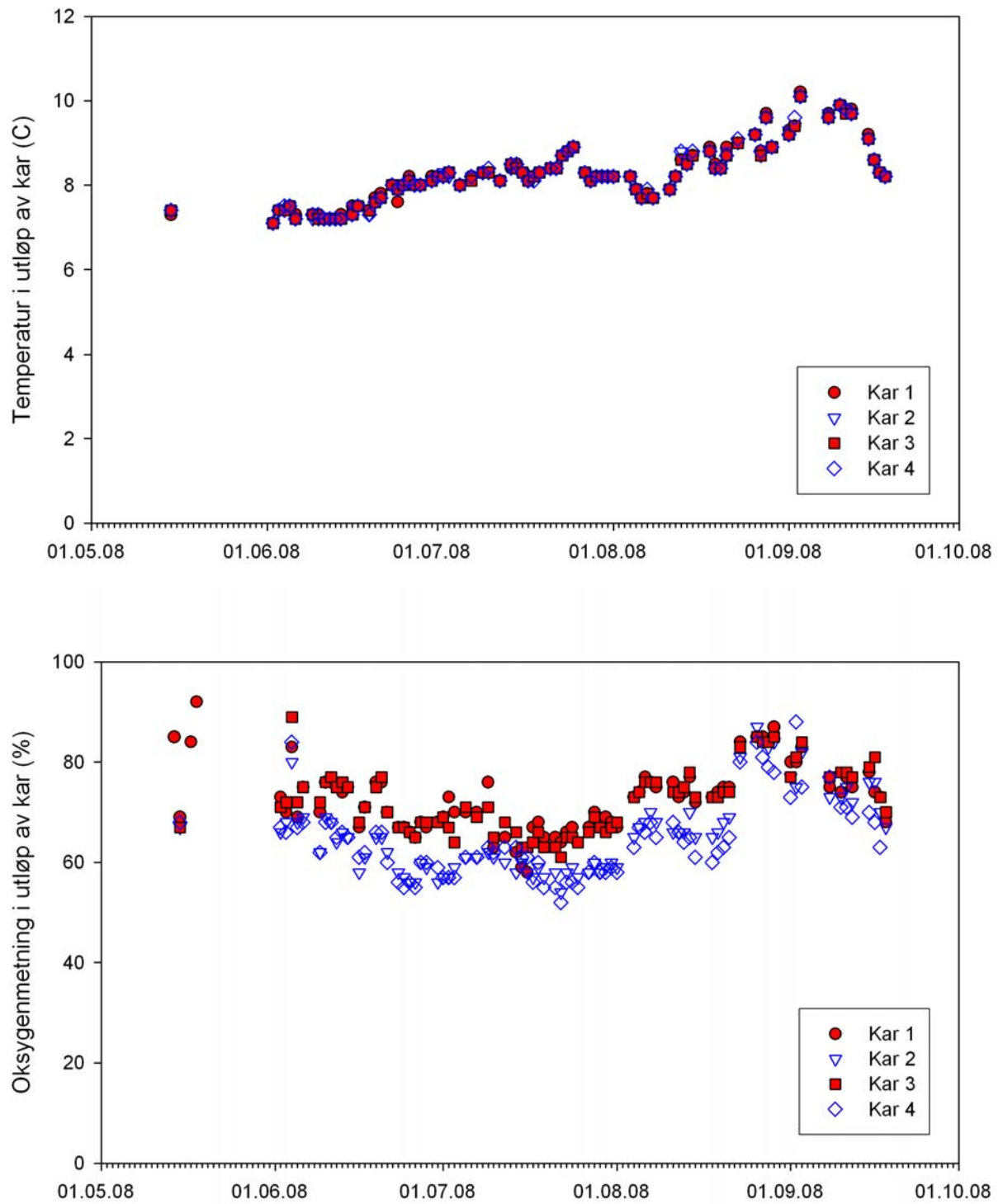
4.4 Effektstudie (gruppestudie)

4.4.1 Forsøksoppsett

Torsken ble fordelt i 4 stk oppdrettskar hvert med vannvolum på 12 m³ og vanddybden var 0,9 meter. Antall fisk og total biomasse i hvert kar er vist i Tabell 1. Hvert kar ble forsynt 10 000 liter rent sjøvann fra 60 meter. Før forsøksstart ble fisken behandlet mot ektoparasitter ved formalinbehandling 1:4000, ved at vannstand ble redusert fra 0,9 til 0,6 meter, karet tilsatt 2 liter 38 % formalin og vanngjennomstrømming fylte vannstanden igjen i løpet av 30 minutter. Sjøvannet som karene var forsynt med holdt 90 % oksygenmetning og en temperatur 7,4 grader ved forsøksstart. Utviklingen i miljøvariablene oksygen og temperatur er beskrevet i figur 3.

Tabell 1. Forsøksoppsett og fordeling av fisk

Kar-nummer	Behandling	Antall fisk ved oppstart	Snittvekt ved start (kg) \pm S.D.	Biomasse ved start (kg)
1	Sulting	74	3.2 \pm 1.5	242.5
2	Fôring	77	2.9 \pm 1.4	225.7
3	Sulting	74	3.3 \pm 1.5	246.2
4	Fôring	79	3.2 \pm 1.4	251.3



Figur 3. Karvis tidsutvikling for temperatur (°C) og oksygenmetning (%) gjennom forsøksperioden

4.4.2 Håndtering av dyrene ved målingsuttak

Torsken ble individuelt håvet ut fra oppdrettskarene og overført direkte til en stamp med forbedøvelse bestående av 50 liter sjøvann og 1 mg/l metomidat. Etter 2–3 minutter ble fisken overført til et 1 meters bedøvelseskar med 200 liter vann med 40 mg/l metacain. Når fisken viste tegn på dyp narkose (ingen respons på klyp i sporden), ble den overført til prøvetakingsbenk. Her ble gjellene ventilert med vann tilsatt 1 mg/l metomidat. På prøvetakingsbenken ble PIT-tag merke avlest, fisken ble målt (totallengde) og veid og eventuelt ultralyd av lever foretatt, subjektiv vurdering av forekomst og alvorlighetsgrad av ytre skader på øyne, kropp, brystfinne, ryggfinne, halefinne. Hver annen fisk ble avfotografert, med nærbilder av områder som ble skadevurdert, slik at skadeindeksen skal kunne valideres. Klassifiseringsskalaene for skader er vist i Figur 16–Figur 19 i Vedleggskapittelet. Bedømmelsen av skader ble gjort av samme person (Haugen) under alle prøveuttak (5 stk; uke 22, uke, 26, uke 30, uke 34 og uke 38). Blodprøvetaking er beskrevet under kapittel 4.3.3.

4.4.3 Måling av adferd

Det ble daglig foretatt to 15 minutters videoopptak fra alle de fire karene. Kameraene var Axis web kameraer som alle var online slik at en kunne ha oversikt over tilstanden ved karene og igangsette opptak uten å måtte vise seg ved karene (og dermed kunne påvirke fisken). De to daglige opptakene ble gjennomført på tilfeldige tidspunkt og utgjorde råmaterialet for atferdsundersøkelsen.

Atferdsdatene ble fremskaffet ved at vi valgte tilfeldig fem minutter fra tilfeldig valg av filer som ble laget for hvert opptak. Over disse fem minuttene ble følgende observasjoner målt/registret:

- Antall fisk som passerte en linje i tanken (mål på generell aktivitet)
- Antall individer som klør seg på bunnen (for fjerning av parasitter)
- Antall individer som jager et annet individ
- Antall individer som blir fortrenget (jaget)
- Antall individer som viser lateral displacement (”måler seg” mot andre ved å gå tett opp på siden)

I tillegg noterte vi oss eventuelle tendenser og gjennomføring av kannibalisme.

4.4.4 Måling av leverstørrelse ved hjelp av ultralyd

For å måle størrelsen på leveren brukte vi et Portabelt ultralydapparat av merke LOGIQ BookXP fra GE medical system. Det ble brukt en curvelineær probe med senterfrekvens 3,5 og med frekvensområde 2–5 MHz. Frekvensen som ble benyttet i dette forsøket var 5 MHz.

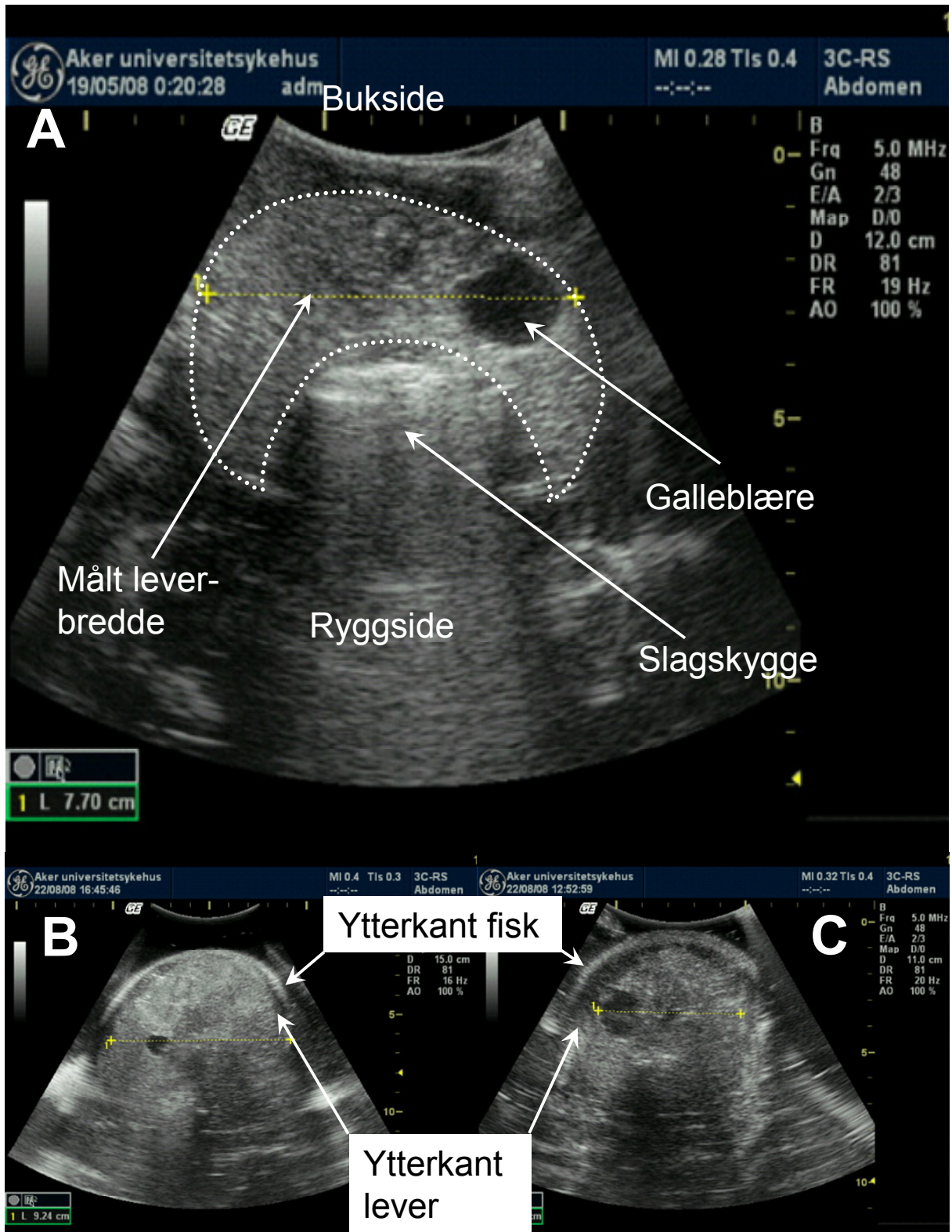
Ultralydscanningen ble utført på bedøvd fisk liggende med buksiden opp i saltvann med vedlikeholdsdose av metomidat. Svømmeblæra vil på grunn av gassinnholdet reflektere nær sagt all ultralyden. På baksiden av denne refleksjonsoverflaten vil det derfor ikke kunne registreres objekter med ultralyden. Dette kalles slagskygge. Ved å gjennomføre ultralydscanningen fra buksida unngår man problemer med diametermålinger i området med slagskygge. Det var også viktig å unngå beinstrukturene til brystfinnene da også disse ville kunne gi slagskygge og forringelse av vevsbildet. Vi scannet fisken i tverrsnitt (dvs vinkelrett på fiskens lengdeakse) og fikk dermed tverrsnittsbilder av leveren i form av gråtonebilder/B-mode-bilder.

Galleblæra vil på ultralydbildet framstilles som et svart væskefylt hulrom i tilknytning til leveren. Der diameteren på galleblæra var størst, ble bredden på leveren målt. Ved å ha et slikt referansepunkt ble leverbredden målt på samme sted hos nær sagt all fisken. Hos alle fiskene ble det på dette referansepunktet gjort 5 repeterte målinger. Dette for å kunne estimere metodens målefeil.

Hos noen av fiskene var galleblæra ikke mulig å visualisere. Dette gjaldt spesielt ved avslutningen av forsøket hvor tidligere uføret fisk hadde blitt føret. Hos disse ble leverens bredde målt der hvor diameteren var på det største og hvor kanten på leveren var mest tydelig for måling.



Figur 4. Ultralydmålinger. Den bedøvede fisken holdes med buksiden opp i vann med vedlikeholdsdose av bedøvelse (metomidat).



Figur 5. Eksempelbilder på ultralyd (B-mode bilder) i fiskens tverrsnitt. A. Leverbredde ble målt hvor galleblæra har størst diameter. Ved å ha et slikt referanseområde ble målingene tatt på tilnærmet samme sted for all fisken. Slagskygge oppstår som følge av refleksjon fra svømmeblæra. B. Eksempel

på tverrsnitt hos fôret fisk og C. ufôret fisk. Legg merke til leveren fyller opp større del av buken i B enn C og at galleblæra er mindre.

4.4.5 Måling av sårheling

Sårheling ble dokumentert ved at de ulike skadene ble indeksert etter en skala fra 0 til 5, der 0 innebar ingen tegn til skade, mens 5 var svært omfattende skade. Skadene ble også dokumentert ved fotografering. For øyeskader ble skalaen delt inn i 3 nivåer, 0 var ingen tegn til skade og 1 og 2 indikerte hhv ett og to skadde øyne (stort sett innebar dette ett eller to blinde øyne).

4.5 Statistikk

4.5.1 Statistiske modeller

Effektstudien utgjorde et enveis faktorielt design hvor replikatene (duplikater i dette tilfellet) er nøstet under behandlingsnivåene. Fordi forsøket også ønsket å belyse tidseffekter for de ulike variablene som ble målt inngikk sampling tidspunkt (runde) som egen prediktorvariabel i modellene (kontinuerlig variabel i kanuleringsforsøkene og kategorivariabel i effektstudien). På denne måten blir grunnstrukturen i modellene våre et to-veis-design der behandlingen kan ha ulik effekt avhengig av tid (dvs åpner for runde*behandling interaksjonen). Grunnmodellen blir da slik:

$$y_{ijk} = \alpha_{ij} + \beta_i x_i + \beta_j x_j + \beta_{ij} x_i x_j + \gamma_{(i)jk} + \varepsilon_{ijk}$$

hvor x_i and x_j er de to fiksere effektene (behandling og runde), og α (intercept) og β ene utgjør parameterne vi ønsker å estimere. $\gamma_{(i)jk}$ er mellom-replikater (dvs tank) variasjonen, som er nøstet under behandling. ε er residualvariasjonen som antas å være normalfordelt $N\sim(0,1)$ for en gitt link-funksjon.

I kanyleringsforsøkene behandles rundene (som der har større tidsoppløsning) som en kontinuerlig variabel. Fordi vi her jobber med repeterte målinger av de samme fiskene (i motsetning til i effektstudien hvor det tas tilfeldig utvalg ved hver runde) må vi også modellere inn den uavhengigheten som vil være mellom observasjonene innen samme fisk. Dette gjøres ved å modellere individene som random faktor. I tillegg må vi korrigere for tidsmessig autokorrelasjon (målinger som ligger nær hverandre i tid vil være mer korrelerte, dvs avhengige, enn målinger som er mer separert tidsmessig). Dette gjorde vi ved å estimere autokorrelasjonsfaktor, ϕ , som da ble estimert på individnivå.

Så godt som alle modellene ble tilpasset i R-biblioteket LME, versjon 2.8.0 (<http://www.r-project.org/>) eller ved bruk av JMP (versjon 7.0.1). På grunn av generell inkludering av random effekter, ble modellene tilpasset ved REML-metoden (Pinheiro & Bates 2000). Overlevelsesforløpene i effektstudien ble modellert som Cox proportional hazards regresjonsmodeller ved samme metode som anbefalt i (Andersen og Gill 1982). Forutsetningene for å kunne bruke denne modellen ble først testet og funnet tilfredsstillende ved metoden beskrevet i (Grambsch og Therneau 1994). Modellene ble tilpasset ved hjelp av SURVIVAL biblioteket i R versjon 2.8.0.

4.5.2 Presentasjon av resultatene

Resultatene av de statistiske analysene vil i all hovedsak bli presentert i form av figurer i hovedteksten. Figurene vil framstille prediksjonene med tilhørende usikkerhet (standardfeil, s.e., eller konfidensintervall) basert på de statistiske modellene. Parameterestimer, teststatistikk og modellstatistikk (R^2 eller goodness-of-fit statistikk) foreligger i vedleggene til rapporten og disse vil kryssrefereres til i både tekst og relevant figurtekst.

5. Resultater

5.1 Litteraturstudiet

5.1.1 Introduksjon

Det er ikke uvanlig at fisk fra den kaldtempererte sonen utsettes for perioder med redusert mattilgang og at dette medfører redusert energistatus. Lengre perioder med faste, er en naturlig del av livssyklusen for mange fiskearter. De har derfor utviklet evne til å mobilisere store mengder energireserver fra muskelmasse og til oppnå full restituering ved gjenopptakelse av spising etter faste (Navarro og Gutierrez 1995).

Atlantisk torsk (*Gadus morhua*—heretter ”torsk”) og mange andre fisk fra den kaldtempererte sonen er utsatt for sesongmessige svingninger i fødetilgang. Dette resulterer i variasjoner i deres biokjemi og kondisjonsfaktor (Lapointe 2006). Eksempelvis, torsk fra ”the Gulf of St Lawrence”, spiser svært lite under fem vintermånedene (desember til april) og taper 25–27 % av kroppsvekten og 76–84 % av levervekten (tørrvekt) i løpet av denne perioden (Schwalme og Chouinard 1999).

Både adferdsmessige og fysiologiske strategier benyttes når fisk skal oppfylle energibehovet under perioder med liten mattilgang. Primært satser de på å tære på lagrede fettreserver (Pottinger m. fl. 2003). Forbruket av energireserver avhenger av fiskestørrelse, reproduksjonshistorie, type og tilgjengelighet av føde, samt temperaturforhold (Ultsch 1989; Metcalfe og Thorpe 1992; Hutchings m. fl. 1999).

Som respons på redusert fødetilgang kan fisk minske både aktivitet og metabolisme (Wieser 1991; Mendez og Weiser 1993), tilpasse den metabolske kapasiteten i vevene (Guderley m. fl. 1996) og begynne å forbrenne muskelprotein (Black og Love 1986; Guderley m. fl. 2003). Enkle kondisjonsindekser som Fultons kondisjonsfaktor (K), leverindeks, samt vanninnhold i muskel og lever, vil endre seg dramatisk ved sulting av torsk (Lambert og Dutil 1997). Hos torsk vil leverens fettreserver være det første som mobiliseres under fôrrestriksjon, fulgt av mobilisering av glykogenlager fra lever og muskel. Under lengre perioder med sulting vil nedbryting av muskelprotein aktiveres med påfølgende nedsatt fysiologisk kapasitet som resultat (Black og Love 1986). En slik reduksjon i det makromolekylære innholdet medfører en markert økning i vevets vanninnhold. Det er påvist økning i vanninnhold fra 15 % til 80 % i levervev og 77 % til 92 % i muskelvev (Lambert og Dutil 1997). Følgelig vil lengre perioder med fôrrestriksjon dramatisk redusere torskens metabolske kapasitet (Guderley m. fl. 1996; Dutil m. fl. 1998).

Metabolismen under en fasteperiode, vil variere med fiskeart, utviklingsstadium, samt tid og temperaturforhold (Guderley m. fl. 1996). Yngel i rask vekst og utvikling, og med mindre energilager, vil være mer sensitive ovenfor en sulteperiode enn eldre fisk. Den metabolske raten øker med temperatur og dette forårsaker relative endringer i tilgjengelige næringsstoffer (glukose, fett og aminosyrer) til forbrenningen. Svært lite vitenskapelig arbeid har blitt utført for å se på effekter av føderestriksjon under perioder opp mot 16 uker. Dagens studier går ikke lengre enn 10–12 uker. Det har vært en del forskning på fysiologiske effektene av sult, men denne informasjonen er begrenset og delt opp i tidsperioder (kortvarig, mellomvarig og langvarig). Enda færre undersøkelser har omhandlet de atferdsmessige konsekvensene av langvarig føderestriksjon i en akvakultursammenheng. De publiserte arbeidene som vi har sett på er av begrenset omfang, med svært lite forskning på effektene av samhandling mellom individer i oppdrettstankene. Denne gjennomgangen vurderer omfanget av dagens kunnskap om virkningene av langvarig fôrrestriksjon hos torsk og foreslår områder som krever videre arbeid.

5.1.2 Fysiologiske effekter av sulting av torsk

I det følgende skal vi se nærmere på effekter av fôrrestriksjoner på viktige fysiologiske faktorer hos torsk.

Kondisjon

Typisk for sulteforsøk er at den sultede torsken skiller seg signifikant fra fôret torsk ved forsøksslutt. Dette gjelder særlig for karakterer som vekt, kroppslengde, kondisjon og leverindeks (**Tabell 2**). Sultet torsk har blitt vist å tape 0,55 % i gjennomsnittlig kroppsmasse per dag, mens overskuddsfôret torsk legger på seg 0,87 % kroppsmasse i gjennomsnitt pr dag. Innvolls- og gonadeindeks var i disse forsøkene ikke forskjellige ved avslutning (Guderley m. fl. 1996). I et annet sulteforsøk ble sluttkondisjonsfaktor hos sultet torsk $0,54 \pm 0,1$, mens den hos fôret torsk ble $0,81 \pm 0,1$ (Martinez et al 2003). I sistnevnte forsøk ble vekstraten, basert på total biomasse i en fiskegruppe, vist å avta med $0,27 \pm 0,08$ % kroppsmasse per dag hos den sultede torsken, mens den fôrede torsken ikke økte i vekt. Forsøket viste også at leverindeksen var signifikant lavere hos sultet enn hos fôret torsk ($1,1 \pm 0,4$ mot $3,9 \pm 2,0$), mens gonadeindeks, hematokrit, hjertemasse og gjellebuemasse ikke var forskjellig mellom de to gruppene (Martinez m. fl. 2003). I forhold til det omtalte vekttapet hos den sultede torsken i dette forsøket oppsto mesteparten av vekttapet (20 %) fra startvekten under de første 29 dagene av fasteperioden. Bare 2 % av vekten ble tapt gjennom de etterfølgende 91 dagene. Dette er i tråd med funn i lignede studier hos laksefisk (Weatherley og Gill 1981; Einen m. fl. 1998), se (Pottinger m. fl. 2003).

I en studie med sulting i 12 uker dokumenterte (Guderley m. fl. 2003) en reduksjon i leverstørrelse med en faktor på 0,1—dvs at leveren veide 10% av hva den gjorde før sultingen ble igangsatt. I et annet 12-ukersforsøk ble det vist at sultet torsk hadde mye lavere kondisjonsfaktor og leverindeks en fôret kontrollfisk. Gonadeindeksen mellom individer var imidlertid ikke forskjellig for de to gruppene (Martinez m. fl. 2004). Det kan konkluderes med at kondisjonsfaktor og leverindeks, samt vanninnhold i muskel og lever endres dramatisk ved endringer i energistatus hos torsk (Lambert og Dutil 1997; Martinez m. fl. 2003).

Muskelvev

Hos sultet torsk har det blitt vist at hvitt muskelvev har lavere aktivitet av laktatdehydrogenase, lavere bufferkapasitet, lavere nivå av sarkoplasma og myofibriller, samt lavere totalt protein nivå enn hos torsk som fôres (Guderley m. fl. 1996). I den samme studien omtales at sulting eller fôrbegrensning medfører lavere muskelnivå av både enzymatiske og strukturelle proteiner, samt høyere aktivitet av proteaser og transaminaser som produserer glukogene aminosyrer fra muskelprotein. Det ble også dokumentert at hvit muskel hos torsk som var sultet hadde 6 ganger lavere LDH-aktivitet enn fôret torsk (Guderley m. fl. 1996). En annen sultstudie viste at den metabolske kapasiteten til hvit muskel hos torsk var mer påvirket av sulting enn torskens røde muskelvev (Martinez m. fl. 2003). Samme studie viste også at sulting reduserer aktiviteten av muskelenzymer og konsentrasjonen av kontraktile proteiner. Faktisk viser denne studien at sulting reduserer aktiviteten hos alle målte enzymer i hvit muskel. Effekten var større for de glykolytiske enzymene enn hos enzymer i mitokondriene. Det ble også vist at sulting reduserer proteinkonsentrasjonen opp mot 15 % i hvit muskel og 19 % i rød muskel. Glykogeninnholdet i hvit muskel var opp til 12 ganger høyere hos fôret torsk enn hos sultet torsk. I rød muskel var den samme differansen 6 ganger (Martinez m. fl. 2003). Samme studie viste også at laktatkonsentrasjonen i hvit muskel ved avslutning av en utholdenhetstest var 1,6 ganger høyere i fôret torsk enn hos sultet torsk. Videre at laktatkonsentrasjonen i hvit muskel ved avslutning av en ”spurt-og-gli-tests” var 2,5 ganger høyere hos fôret enn hos sultet torsk.

Det prosentvise tapet av muskelmasse som konsekvens av sulting av torsk avhenger av muskeltype. For eksempel viser (Martinez m. fl. 2004) at sultet torsk taper 81 % av hvit muskelmasse, men bare 56 % av rød muskelmasse. Den metabolske kapasiteten i både rød og hvit muskel hos sultet torsk har blitt vist å avta markert som følge av behandlingen (Martinez m. fl. 2003). Dette skyldes at muskelprotein nedbrytes for å møte energibehovet (Lapointe 2006).

Enzymatiske responser

Cytochrome C oksidase (COX) er det siste enzymet i mitokondrienes elektrontransportkjede og aktiviteten til dette enzymet forteller oss således mye om den respiratoriske aktiviteten til cellene. Hos sultet torsk er COX-aktiviteten i tarmen blitt vist å være lavere hos sultet enn hos fôret torsk (Guderley m. fl. 1996). Somatolactin er et enzym som skilles ut i hypofysen hos fisk og som har regulerende funksjon bl. a. i forhold til vekst og modning. Dette enzymet kan påvirkes av stressresponsen hos fisk □, men det er ikke funnet bevis for at somatolactin er direkte involvert i en sulterespons hos fisk (Pottinger m. fl. 2003).

Noen leverenzymmer endrer seg ved sulting. Innholdet av lysosomale proteaser avtar, mens katalase (CAT) øker. Økningen i den spesifikke aktiviteten til enkelte leverenzymmer kan mest sannsynlig knyttes til reduksjon i leverens fettinnhold, samt mobilisering av glykogen og protein fra kontrollert autolyse under sulting (Guderley m. fl. 2003). Samme studie viser at lysosomale enzymer som inngår i karbohydratmetabolismen, samt glutathion S-transferase (GST), har uforandret aktivitet i lever hos sultet torsk. Så selv om sulting av torsk typisk vil medføre redusert metabolsk kapasitet, opprettholdes eller forsterkes visse lysosomale enzymer samt forsvarsmekanismer mot antioksidanter (Guderley m. fl. 2003). Forfatterne av denne studien mener at dette viser at torsk har spesifikke hierarkiske reaksjoner med tanke på mobilisering av makromolekyler under sulting. Aktiviteten til fire glykolytiske enzymer (fosfofruktokinase (PFK), laktat dehydrogenase (LDH), pyruvate kinase (PK) og creatine kinase (CK) har blitt vist å avta i både rødt og hvitt muskelvev under sulting, men aktiviteten til de to mitokondrieenzymene COX og sitratsyntase (CS) påvirkes i liten grad. Disse forandringene av fiskemuskelens metabolske kapasitet antas å redusere svømmekapasiteten, spesielt siden denne er avhengig av glykolytisk aktivitet (Martinez m. fl. 2004).

Hormonelle responser

Kortisol rapporteres alltid som forhøyet ved sulting hos varmblodige arter. Dette indikerer at sult eller feilernæring må ses på som stressituasjoner (se (Pottinger m. fl. 2003) for artsliste på side 404). I motsetning til dette, er kortisolverdiene ofte ikke forhøyet hos ellers ustresset fisk som gjennomgår sulting. I stresslitteraturen på fisk rapporteres det både om lavere, senkede og forhøyede nivå av kortisol (se liste i (Pottinger m. fl. 2003)). Det kan antas at forskjellene kan skyldes de eksperimentelle forholdene, eller at noen av artene eller livsstadiene er ulikt påvirket av sulting. Mer forskning er nødvendig for å identifisere stress responsene under spesifikke forhold for de ulike artene.

Kortisolnivå for torsk før og under et akutt stress i forhold til temperatur er blant annet beskrevet av (King og Berlinsky 2006). King og Berlinsky (2006) fant at kortisolnivå post-stress for torsk (18 g) som var akklimert til 14, 10 og 4 °C lå i område 5–30 ng/ml, med de høyeste verdiene målt for den høyeste temperaturen og den laveste verdien ved den laveste temperaturen. Under eksponering for et akutt stress (30 sekunder håving) fant de en kortisolrespons i størrelsesorden 60–70 ng/ml. Etter 24 timer var kortisolverdiene nede på pre-stressnivå, men denne gangen med de laveste verdiene for høyest vanntemperatur og høyeste verdiene for laveste vanntemperatur. Perez-Casanova m.fl 2008, fant en kortisoltopp torsk ved 16 graders vann og basalnivåer omkring 15-25 ng/ml ved 10 grader.

Responsen hos sultet og fôret torsk på en akutt stressor, (nedtapping av vannstand + jaging i 15 minutter) er studert av Olsen m. fl 2008. I dette forsøket fant man at kortisolresponsen var høyere og gikk langsommere ned hos sultet torsk. Sultet torsk nådde en kortisol topp på 81 ng/ml ca 1 time etter

eksponering for en akutt stressor og returnerte til et basalnivå på 13 ng/ml etter 24 timer. I kontrast nådde fôret torsk en kortisoltopp på 58,9 ng/ml ca 1 time etter eksponering for en akutt stressor, og falt ned på basalnivå allerede etter 12 timer. Forsøket viste at akutt stress påvirker blant annet tarmpermeabiliteten og ioneregulering negativt mer for sultet enn for fôret torsk. Olsen m. fl. 2008, konkluderte med at sultet torsk tålte mindre stress enn fôret torsk. I det samme forsøket fant Olsen m.fl., 2008 at plasma glukose økte fra basalnivå på 3-4 mmol/l til 6,5 -7,0 mmol/l ca 4 timer etter akutt stress eksponering. Glukosenivået holdt seg høyt i 2 døgn før det eturnerte til basalnivå etter 48 timer. Det var ikke forskjell mellom sultet og fôret torsk.

I en studie av regnbueørret ble det ikke dokumentert noen forhøyning i nivå av veksthormon før etter 9 uker med sulting hvorpå den økte 9 ganger (Pottinger m. fl. 2003). Samme studie viser ingen signifikante endringer av plasmakortisol som kunne relateres til fôringsregime på noe tidspunkt og det ble ikke funnet bevis for at somatolaktin spilte en aktiv rolle som respons til sulting. En annen studie viste at fôrrestriksjon hos gilthead seabream (*Sparus aurata*), ved normale oppdrettstettheter, forårsaket økte nivå av plasmakortisol og metabolske forandringer i leveren (13 % økning glukoneogenese og 18 % økning i det glykogenolytiske potensialet) (Sangiao-Alvarellos m. fl. 2005). De samme forskerne viste at fôrrestriksjon i 2 uker produserte en 3 ganger økning i plasmakortisolnivået hos seabream.

5.1.3 Fysisk prestasjonsevne

Sulting reduserer normal (rutinepreget) bevegelsesaktivitet hos fisk (se referanser i (Martinez m. fl. 2003) side 509). Forfatterne av dette arbeidet mener at den observerte reduksjonen av normal svømmeaktivitet kan være en energisparingsstrategi, like så mye som faktisk redusert svømmekapasitet.

I et sulteforsøk med torsk ble svømmeprestasjonen vurdert etter 16 ukers sulting (Martinez m. fl. 2003). Både svømmetid og svømmedistanse ble i denne studien målt til å være 3,4 og 4,7 ganger høyere for fôret enn hos sultet fisk. I tillegg var utholdenheten hos sultet torsk bare 30 % av fôret torsk. I en liknende studie (individer sultet i 12 uker) ble sprintegenskapene, målt som hastighet absolutt (cm s^{-1}) eller relativ ($\text{kroppslengde s}^{-1}$) vist å være signifikant lavere hos sultet fisk enn hos fôret fisk (Martinez m. fl. 2003).

Vannets oksygeninnhold er vist å påvirke torsk sin svømmehastighet og fysiologiske stress. Reduksjons av oksygeninnholdet i vannet til om lag 20 % medførte kraftig kortisol respons (110 ng/ml), men ingen forhøyet plasmaglukose (3,5 mmol/l) (Herbert og Steffensen, 2005). Dette er i tråd med funn av Johansen m.fl., 2006. Torsk anses derfor som relativt tolerant for lave oksygenivå (Plante m. fl., 1998).

5.1.4 Atferdsmessige effekter av sulting

To studier har sett på konsekvensene av fôrinntakshierarki hos fisk i oppdrettskar der føde begrenses. Fôringsrestriksjon for regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*) medførte markert variasjon mellom individene med tanke på fôrinntak. Dette var sannsynligvis forårsaket av etablering av fôringshierarki (Jobling og Koskela 1996).

(Pelletier m. fl. 1994) fant at den positive sammenhengen mellom veksthastighet og mitokondriell enzymaktivitet i hvit muskel, som hadde vært tydelig når fisken levde i grupper, forsvant da torsken ble plasserte individuelt for å eliminere etablering av fôrinntakshierarkier. Sammenhengene mellom

glykolytiske enzymaktivitet og veksttakten endret seg derimot ikke (Pelletier m. fl. 1994; Guderley m. fl. 1996).

Ernæringsmessig stress kan også påvirke fiskens evne til å takle andre stressorer, som for eksempel høy fisketetthet (Sangiao-Alvarellos m. fl. 2005). Fôringsrestriksjon økte sensitiviteten til gilthead sea bream for tetthetsstress sammenlignet med fôret kontrollfisk. Den stressede fisken hadde en økning i plasmakortisol på 50 % i forhold til fôret fisk og en 70 % reduksjon i kapasitet til å transportere glukose mobilisert fra glykogenlager i lever (Sangiao-Alvarellos m. fl. 2005).

Forekomst av finneslitasje hos torsk, som et utslag av aggressiv adferd ved fôrrestriksjon (faste) og redusert fôring er studert av Hatlen et al 2006. Dette forsøket viste økt forekomst av finneslitasje (rygg og brystfinner) i gruppene som ikke fikk noe eller redusert diett sammenlignet med gruppen som fikk fôr. Resultatene var imidlertid størrelsesavhengig. Det er kjent at aggresjon hos fisk kan føre til finne skader (Abott og Dill, 1985, Moutou m.fl., 1998, Turnbull m. fl., 1998). I kontrast til disse funn har man også eksempler på forsøk med torsk som ikke får fôr og som ikke får finneskader (Braaten, 1984, Hawkins m.fl., 1985, Foster m.fl., 1993)

5.1.5 Opp-fôring (refôring)

Når fødeinntak gjenopptas etter en moderat eller lang periode uten mat, så vil energireservene i fisken restitueres (Black og Love 1986) og fisken vil gå igjennom en periode med mye høyere vekst, som betegnes som kompensasjonstilvekst (Weatherley og Gill 1981; Belanger m. fl. 2002). Den raske vekstfasen er ofte kort og preges av forbigående stor appetitt (Jobling og Koskela 1996). Forlengede perioder med faste (vinter, gyting og vandring) er naturlige deler av livssyklusen hos mange fiskearter og kompensatorisk vekst er godt dokumentert hos flere av disse (Dobson og Holmes 1984; Miglavs og Jobling 1989; Navarro og Gutierrez 1995; Nicieza og Metcalfe 1997; Belanger m. fl. 2002; Pottinger m. fl. 2003). I mange tilfeller vil sultet fisk som tilbys føde igjen raskt gjenvinne en kroppsvekt og kondisjonsfaktor som er lik fisk som er tilbudt føde i hele perioden (Pottinger m. fl. 2003). Dette som en følge av at fiskene som refôres oppnår dobbel veksthastighet sammenlignet med fisk som fôres kontinuerlig (Pottinger m. fl. 2003; Dutil m. fl. 2006).

Flere fysiologiske mekanismer muliggjør denne sterke veksthastigheten. I startfasen vil refôring føre til ekstrem rask (innen 24 timer) reduksjon av frie fettsyrer i blodplasma og rask økning i plasma-, muskel- og leverglykogenkonsentrasjoner. Dette som en følge av økning i proteinsyntesen i musklene (Ince og Thorpe 1976; Black og Love 1986; Mendez og Weiser 1993; Guderley m. fl. 1996; Pottinger m. fl. 2003; Hall m. fl. 2006). Rask recovery av plasmametabolitter til før-sult nivå er blant annet funnet hos refôret karpe (Bohm m. fl. 1994).

Torsk som viste kompensasjonsvekst etter 10 ukers sulting hadde lavere relativ hvit muskelmasse enn kontrollfisk, mens den relative massen av blindsekker og tarmsystem var større enn hos kontrollfisk. Dette indikerer at størrelsen på fordøyelsesorganene kan være korrelert med kapasitet for kompensasjonsvekst (Belanger m. fl. 2002). Dette indikerer også at den aerobe fordøyelseskapasiteten til blindsekkene kan være relatert til vekstkapasitet etter sulting, muligens via energetisk kostnad knyttet til syntese av fordøyelsesenzymmer. Dette underbygges av en dobling av NDPK-aktivitet (en indikator på proteinsyntese) i blindsekkene. Blier m.fl. 2000 viste at torsk som var sultet i 68 dager før den ble tilbudt lodde, økte sin kroppsvekt markert etter 14 dager med re-fôring med lodde. Allerede ganske umiddelbart økte størrelsen av tarmvevet, trypsin og citrate synthase nådde maksimal aktivitet 14 dager etter refôring. Den fenotypiske fleksibiliteten til torskens fordøyelsessystem er å betrakte som formidabel (Blier m.fl. 2007). Laks som sultes i en periode på 40 til 50 dager ved 9 graders sjøvann får opptil 75 % redusert enzymkapasitet i tarm. Ved refôring reetableres enzymkapasiteten etter en uke (Krogdahl og Bakke-McKellep, 2005).

Kompensasjonsvekst er vanligvis assosiert med hyperfagi (unormal økning i appetitt og fødekonsum) og økt effektivitet i forutnyttelse (Ali og Wootton 2001), noe som indikerer økt fordøyelseskapasitet ved gjenintroduksjon av for. (Blier m. fl. 1997) foreslår at vekst hos fisk er begrenset av fordøyelsesprosessen. Økt aktivitet av enzymet citrat syntase i blindsekkene under kompensasjonsvekst, indikerer økt aerob ATP produksjon for å gi energi for syntese av fordøyelsesenzymmer, for eksempel trypsin (Lemieux m. fl. 1999). Ekstrem lav kondisjonsfaktor etter en lang periode med sulting, kan ha ugunstig innvirkning på vekstkapasiteten ved at den metabolske kapasiteten nedsatt på grunn av tap av muskelmasse (Dutil m. fl. 1998; Belanger m. fl. 2002; Martinez m. fl. 2003). Dette vil potensielt svekke kompensasjonsveksten hos utmagrede individer. (Dutil m. fl. 2006) fant at ekstremt lav kondisjonsfaktor hadde ugunstig effekt på vekstkapasiteten. Veksten var langsom under de 3 første ukene med reføring, men dette var en korttidseffekt, da høyere spesifikke vekstrater ble observert hos fisk med lav kondisjonsfaktor enn hos kontrollfisk under de påfølgende ukene.

På bakgrunn av dette var det faglig relevant å følge loddetorsken i vårt forsøk under en 4 ukers reføringsperiode som fulgte etter 12 uker med fôrrestriksjon for å se på restitusjonspotensialet.

5.2 Velferdskonsekvenser av sulting

Velferd hos dyr vurderes vanligvis etter tre definisjoner:

1. Følelses-baserte definisjoner, der det mentale velvære hos et dyr vurderes.
2. Funksjons-baserte definisjoner, der man fokuserer på evnen et dyr har til å tilpasse seg til det aktuelle miljøet, samt at det er i god helse, med sunne kroppsfunksjoner.
3. Natur-baserte definisjoner, der dyret er i stand til å uttrykke atferd som ligger til sin biologiske natur.

Alle tre definisjoner lider til en viss grad av manglende kunnskap om å definere i hvilken grad et avvik fra et dyrs naturlige tilstand, har negativ innvirkning på et dyrs velferd. På grunn av vanskelighetene med å definere "velferd", vurderes ofte velferd som at de grunnleggende kravene til et dyr må være oppfylt for at en akseptabel velferd skal nåes. Innen velferdslitteratur refereres det ofte til de "fem friheter" (opprinnelig foreslått for husdyr i landbruket av Brambell komitten i 1965 (FSBI 2002; Wolfrom 2004; Huntingford m. fl. 2006).

De fem frihetene er;

1. Frihet fra tørst, sult og feilernæring med tilgang til friskt, rent vann og tilfredsstillende, næringsrik mat for å opprettholde full helse-og handlekraft.
2. Frihet fra ubehag ved å tilby et miljø som passer til deres art, inkludert adekvat husly og et behagelig hvileområde.
3. Frihet fra smerte, skader og sykdom ved forebygging, rask diagnostisering og behandling.
4. Frihet til å uttrykke normal atferd ved å tilby av nok plass, egnede lokaler og selskap av dyr egen art.
5. Frihet fra frykt og smerte ved å tilby leveforhold som forebygger lidelse

Velferd under en sulteperiode kan sikkert problematiseres om man ønsker å diskutere dette i en etisk kontekst, men problemstillingen kan ikke uten videre overføres fra pattedyr til fisk. Fisk sin fødetilgang og ernæringsnivå vil svinge under normale omstendigheter, på grunn av naturlige reduksjoner i appetitt. Det er ikke gitt at dette nødvendigvis kan sies å gi dårligere velferd. For eksempel, er det vist at torsk fra Gulf of St Lawrence spiste svært lite i løpet av de fem vintermånedene (desember til april) og tapte 25-27% av sin kroppsvekt og 76-84% av sin levervekt i

løpet av denne tiden (Schwalme og Chouinard 1999). Fisk er vekselvarm og de behøver ikke å opprettholde en fast kroppstemperatur, og er dermed mer i stand til å takle perioder med lite mat (FSBI 2002). Men under visse forhold, når fisken naturlig sett ville søke føde og spise (f.eks under høyere temperatur, ulike livsstadier), og behovet for å spise er større, kan velferden påvirkes negativt om føde ikke tilbys.

Foreløpig informasjon om velferdseffekter av langvarig fôrrestriksjon er svært begrenset, og mye eksisterende litteratur om sultekonsekvenser og velferdskrav har fokus på laksefisk (Huntingford m. fl. 2006), vi har ikke funnet noe på torsk, sulting og velferd. Europakommisjonens Direktorat for Fiskeri (DG Fisheries) har derimot utformet en rapport på oppdrettsfisk og velferd (Wolfrom 2004) hvor det heter det at "velferdskonsekvensene av fôringsrestriksjon i flere uker, når dette er benyttet som et markedsregulerende tiltak, for eksempel til å forsinke veksten og slaktetidspunkt i perioder hvor markedsprisen er lav, kan være problematisk å forsvare rent velferdsmessig".

Siden Brambell komiteen sin rapport med de "fem friheter" kom ut i 1965, har dyrevelferd har vært gjenstand for en økende offentlig og vitenskapelig debatt. Holdninger til dyrevelferd er i rask endring og velferd hos oppdrettsfisk har i økende grad ført til vitenskapelig og offentlig debatt (Pottinger 1995; Rose 2002; Braithwaite 2004; Chandroo 2004; Sneddon 2004; Ashley 2007) Branson 2008). Enkelte forfattere har konsentrert seg om å identifisere betingelser som må være oppfylt dersom dyrets velferd skal anses å være akseptabel. Selv om det fortsatt er usikkerhet om egnethet, er det foreslått at velferdsriterier for fisk skal omfatte frihet fra alvorlig (langsiktig) stress, lidelse og smerte. (Dawkins 2004) oppsummerer imidlertid de ulike aspekter ved velferd ved å innføre tanken at man bare skal stille to spørsmål for å beskrive velferden til et dyr:

1. er dyret sunt?
2. får dyret det ønsker?

Lidelse og smertebegrepet ikke enkle å håndtere for fisk. (Rose 2002), konkluderte med at fisk ikke kan oppleve "smerte og lidelse". Ifølge Rose, har ikke fisk hjernestrukturer er nødvendig for å oppfatte den emosjonelle siden av smerte. Han foreslo at den smerteresponsive aktivitet i nervesystemet som observeres i fisk som eksponeres for et potensielt smertefullt stimulus, er refleksreaksjoner. I løpet av de siste årene har forskere imidlertid vist at fisk har et smertereseptorisk system med smertereseptorer og nervefibrer (Sneddon 2002; Sneddon 2003b; Braithwaite 2004). Endring av atferd hos ørret er for eksempel observert som en respons på smertestimulering (Sneddon 2003; Sneddon 2003a; Sneddon 2004).

Stressbegrepet for fisk er enklere å håndtere enn begrepene "smerte og lidelse". Beskrivelser foreligger av stressreaksjoner hos fisk generelt (Donaldson 1981; Mazeaud 1981), og for fisk under oppdrett (Pickering 1992; Pottinger 1992; Fløysand 1993; Olsen 1993; Knudsen 1994; Sverdrup 1994). Både primære-, sekundære- og tertiære stressreaksjoner vil oppstå under en oppdrettsfisk sin levetid (Sverdrup 1994). Fysiske forstyrrelser vil oppstå under transport (Sigholt 1995; Erikson 1997; Jittinandana 2005) og under slakting av fisken (Azam 1989; Faergemand 1995; Roth 1997; Robb 2000; Van de Vis m. fl. 2003). Dette er uunngåelig i akvakultur og har potensial til å indusere stressresponser som påvirker muskel(kjøtt)kvalitet. Generelt vil en stresset fisk, akselerere sin post-mortem-metabolisme og utvikle bløtere muskeltekstur (Jerrett 1996; Sigholt 1997; Jerrett 1998). Redusert ante-mortem stress er derfor viktig for å sikre høy kvalitet på kjøtt av oppdrettet fisk. På dette grunnlag er det grunn til å tro at det er en god sammenheng mellom fiskens velferd, under håndtering, oppdrett transport, samt og lossing, og slaktekvalitet.

5.3 Fysiologi hos torsk under ulike behandlinger – litteraturverdier

Tabell 2. Sammenstilling av litteraturdata på normalnivåer og endringer ved ulike behandlinger av fysiologiske variabler som beskriver saltbalanse (Na^+ , K^+ , Cl^-) og syre-base balanse (pH, HCO_3^- , pCO_2), samt stress og næringsstatus (glukose og hematokrit) hos torsk.

Variabel	Behandling	Gjennomsnitt	SD	Referanse	
Bikarbonat, HCO_3 (mmol/L)	Normal	2.6		Foss et al. (2006)	
		6.0	2.1	Urke et al. <i>in prep</i>	
	Trengselstress	5.5	3.2	Urke et al. <i>in prep</i>	
	Lav vannutskiftning	5.4		Foss et al. 2006	
Karbondioksid, pCO_2 (kPa)	Normal	0.7		Foss et al. (2006)	
		1.2	0.4	Urke et al. <i>in prep</i>	
	Trengselstress	1.1	0.4	Urke et al. <i>in prep</i>	
	Lav vannutskiftingsrate	1.0		Foss et al. (2006)	
pH	Normal	7.296		Foss et al. (2006)	
		7.380	0.092	Urke et al. <i>in prep</i>	
	Trengselstress	7.439	0.052	Urke et al. <i>in prep</i>	
	Lav vannutskiftingsrate	7.448		Foss et al. (2006)	
Glukose (mmol/L)	Normal	3.8	0.4	Audet et al. (1992)	
		8.0		Claireaux and Dutil (1992)	
		8.9		Foss et al. (2006)	
		3.9	0.8	Hemre et al. (1991)	
		3.3		Kristensen (2001)	
		6.7	0.6	Nelson et al. (1996)	
	Trengselstress	4.3	1.6	Plante et al. (1998)	
		7.1	0.9	Urke et al. <i>in prep</i>	
		2.1		Kristensen (2001)	
		7.5	0.7	Staurnes et al. (1993)	
		7.0	1.0	Urke et al. <i>in prep</i>	
		6.3	1.0	Nelson et al. (1996)	
	Svømmetest	Håndteringsstress	6.3	2.1	Hemre et al. (1991)
		Hypoksi	9.2	1.9	Claireaux and Dutil (1992)
		Lav salinitet	3.2		Kristensen 2001
		Lav salinitet	6.0	1.6	Nelson et al. (1996)
Lav vannutskiftingsrate	8.0		Foss et al. (2006)		
Hematokrit (%)	Normal	28	2	Audet et al. (1992)	
		25		Claireaux and Dutil (1992)	
		12		Foss et al. 2006	
		24		Hemre et al. (1991)	
		25		Kristensen (2001)	
		27	2	Lie et al. (1989)	
		27	5	Lie et al. (1990)	
		23	2	Nelson et al. (1996)	
		26	2	Plante et al. (1998)	
		23		Staurnes et al. (1993)	
	23	1	Staurnes et al. (1994)		
	Trengselstress	14	1	Urke et al. <i>in prep</i>	
		22		Kristensen (2001)	
		22	0	Staurnes et al. (1993)	
		13	1	Urke et al. <i>in prep</i>	
		25	1	Nelson et al. (1996)	
24		3	Claireaux and Dutil (1992)		
Svømmetest	Hypoksi	24		Kristensen (2001)	
	Lav salinitet	24		Kristensen (2001)	
	Lav vannutskiftingsrate	11		Foss et al. (2006)	

Tabell 2. fortsettelse.

Plasmaklorid (mmol/L)	Normal	140		Kristensen (2001)	
		168	3	Nelson et al. (1996)	
		166		Staurmes et al. (1993)	
	Trenghselstress	168	4	Staurmes et al. (1994)	
		145		Kristensen (2001)	
		168	1	Staurmes et al. (1993)	
		Svømmetest	175	5	Nelson et al. (1996)
		Hypoksi	162	7	Claireaux and Dutil (1992)
		Lav salinitet	165	10	Audet et al. (1992)
			157	2	Claireaux and Dutil (1992)
165	4		Dutil et al. (1990)		
Plasmakalium (mmol/L)	Normal	153		Kristensen (2001)	
		165	8	Nelson et al. (1996)	
		4.5		Foss et al. (2006)	
	Trenghselstress	3.9	0.2	Urke et al. <i>in prep</i>	
		4.0	0.2	Urke et al. <i>in prep</i>	
		Lav vannutskiftingsrate	4.6		Foss et al. (2006)
	Plasmanatrium (mmol/L)	Normal	149		Foss et al. (2006)
			142	1	Urke et al. <i>in prep</i>
		Trenghselstress	143	4	Urke et al. <i>in prep</i>
		Lav vannutskiftingsrate	149		Foss et al. (2006)

5.4 Kanuleringsforsøkene

5.4.1 Resultater

Glukosenivået i blodet synker signifikant ($p < 0.0001$), de første tre ukene av sulting (**Figur 6**), for så å stabilisere seg/synke meget sakte etter dette. Etter de første tre ukene er glukosenivået nede på grensen til det normale, det begynner å bli lavt. Dette kan være en effekt av at glykogenlagrene i fisken tømmes raskt de første ukene og blodsukkeret går ned, for så å holde seg stabilt lavt ved konvertering av aminosyrer til glukose ettersom sultingen fortsetter.

Natrium endrer seg ikke i løpet av sulteperioden ($p = 0.66$, **Figur 6**, **Tabell 5**). Verdiene i basalfysiologiforsøket og for sultet fisk i adferdsforsøket er veldig like. Dette indikerer at fiskens ionebalanse er intakt, og at den derfor ikke har problemer med å opprettholde normal fysiologi.

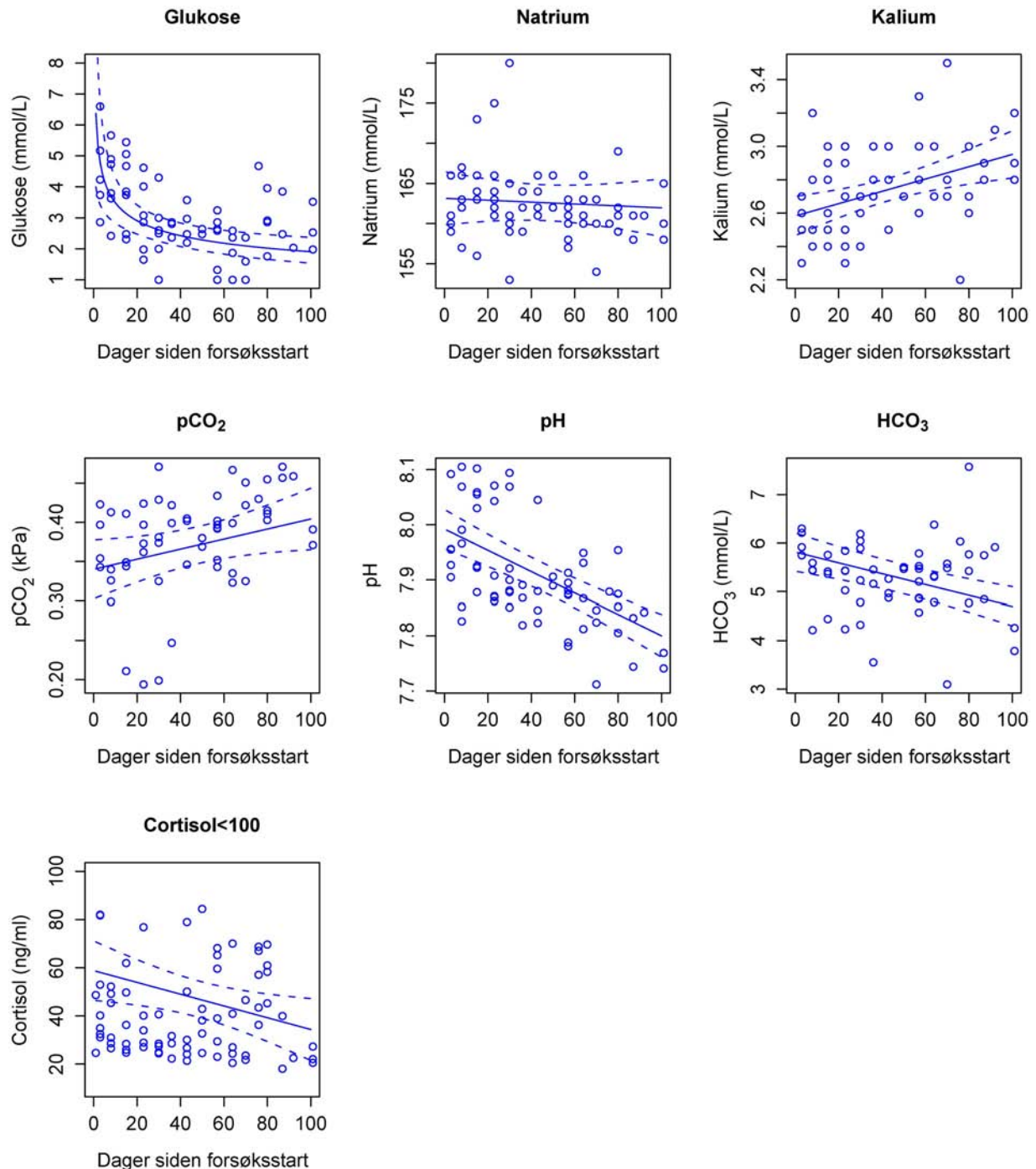
Kalium øker noe i løpet av sulteperioden ($p = 0.0021$, **Figur 6**, **Tabell 5**). Denne forandringen er derimot så liten, og med så stor variasjon mellom individene (33 % av variansen kan tilskrives mellom-individ variasjon), at fisken neppe er betraktelig påvirket.

$p\text{CO}_2$ øker svakt signifikant ($p = 0.045$, **Figur 6**, **Tabell 5**) hos de kanulerte fiskene i løpet av sulteperioden, men siden alle verdiene må sies å være lave sammenlignet med torsken i effektstudien (se **Figur 12**) og tidligere publiserte verdier er vil denne endringen neppe påvirke fisken nevneverdig.

pH synker signifikant hos de kanulerte fiskene i sulteperioden ($p < 0.0001$, **Figur 6**, **Tabell 5**), fra et snitt på rundt 8.0 til rundt 7.8 mot slutten av perioden.

Bikarbonat (HCO_3^-) synker signifikant i løpet av sulteperioden ($p < 0.0001$, **Figur 6**, **Tabell 5**), men variasjonen er stor og de fleste verdiene ligger mellom 4 og 6 mmol/L som regnes som normalt, muligens med en redusert bufferkapasitet i blodet utover i sulteperioden sammenlignet med starten.

Plasmakortisolnivået er stabilt gjennom hele forsøksperioden ($p=0.99$, **Figur 6, Tabell 5**), men det ble målt ekstreme verdier for noen av fiskene (9 målinger var høyere enn 100 ng/ml plasma). Disse verdiene ble tatt ut av trendanalysen.



Figur 6. Estimerte forløp (heltrukne linjer) med tilhørende 95 % konfidensintervall (stiplede linjer) for blodvariabler målt hos permanent kanylert torsk under 100 dagers sulting. Modellene er korrigert for både tidsmessig autokorrelasjon og for avhengighet i dataene som kan knyttes til repeterte målinger (**Tabell 5**). Glukose er tilpasset på log-log skala (men tilbaketransformert i figuren) for å sikre

homogen variasjon over tidsforløpet. Cortisol-analysene er utført på verdier lavere enn 100 ng/ml. Samtlige trender er signifikante, bortsett fra for Natrium. Punktene utgjør ukorrigerede rådata.

5.5 Effektstudien

5.5.1 Resultater

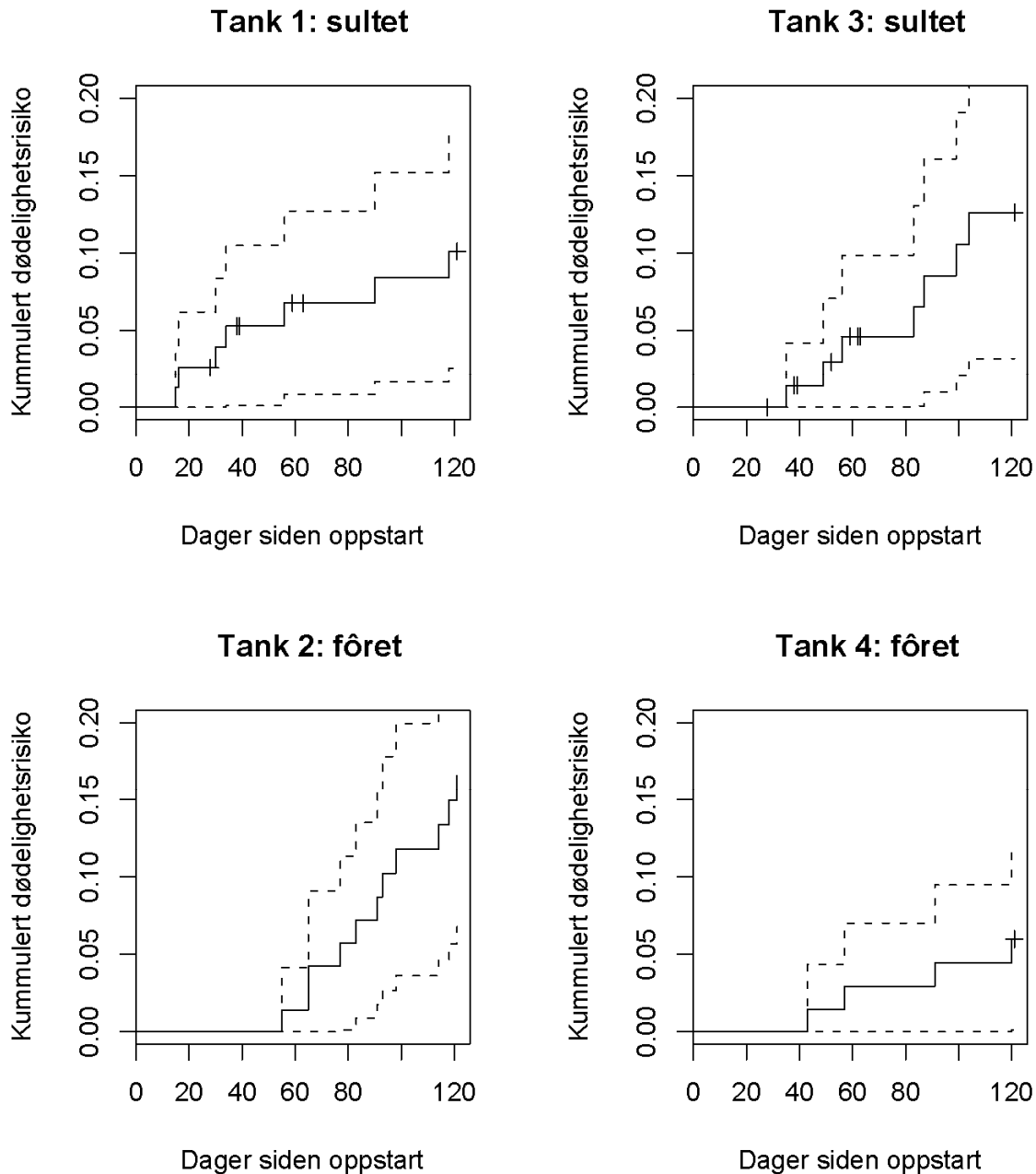
Overlevelse

Total dødelighet varierte mellom 5,1 % (tank 4) til 12,2 % (tank 2) mellom de ulike tankene. Overlevelsesdatene viste ingen signifikant effekt av sulting på overlevelse gjennom den 12 uker lange forsøksperioden. (**Tabell 3**, **Figur 7**). Det var tendens til forskjellig dødelighetsforløp mellom karene i den forede behandlingen (kar 2 og kar 4). Det er nesten signifikant forskjell mellom karene i den fôrede gruppen ($p=0,09$). Det samme var ikke tilfelle i den sultede behandlingen. Forekomsten av kannibalisme var forholdsvis beskjeden. I alt ble 4 individer spist av andre artsfrender. All kannibalisme fant sted i kar uten fôring.

Tabell 3. Parameterestimer og teststatistikk for Cox Proportional Hazards overlevelsesmodellen som ble tilpasset overlevelsesdataene for fôret og sultet torsk.

	Parameterestimer				
	koeff	exp(koef)	s.e.(koef)	<i>z</i>	<i>P</i>
behandling: sultet	0.608	1.84	0.627	0.97	0.33
behandling: fôret: kar 2	1.001	2.72	0.584	1.72	0.09
behandling: sultet: kar 3	0.141	1.15	0.535	0.26	0.79

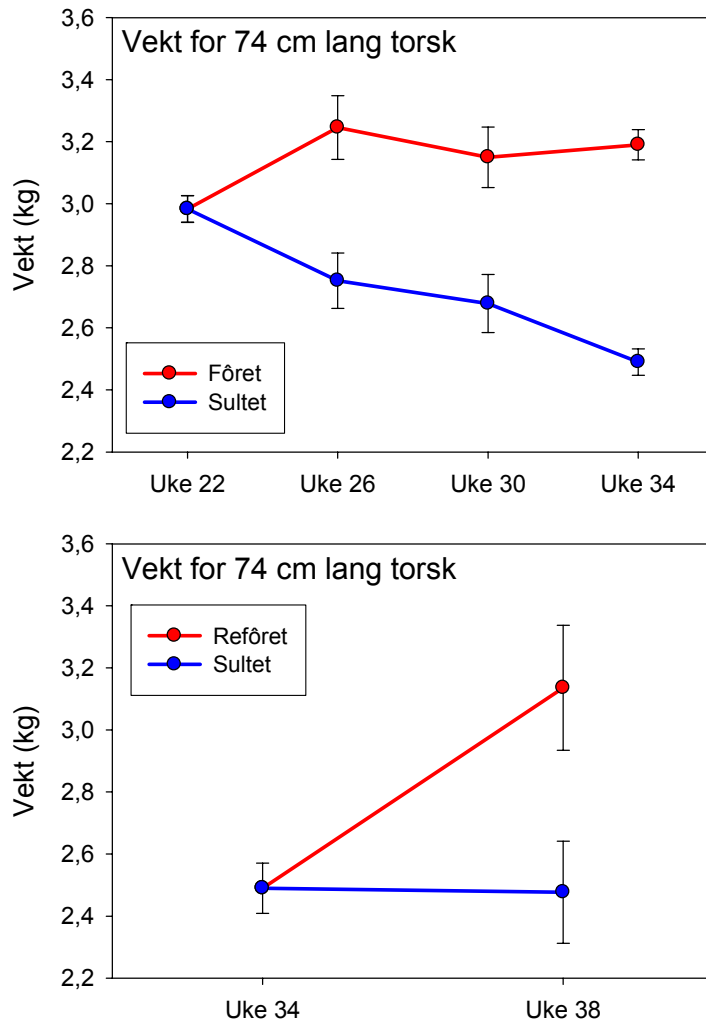
	Teststatistikk					
	Df	Devians	Res. Df	Res. Devians	<i>F</i>	<i>P</i>
behandling	1	0.02	291	321.43	0.02	0.89
kar(behandling)	2	3.39	289	318.03	1.70	0.18
residualer			292	321.45		



Figur 7. Kummulert dødelighetsrisiko for fôret og sultet torsk i løpet av undersøkelsen. Stiplede linjer utgjør 95 % konfidensintervall. Små vertikale linjer som krysser dødelighetskurven indikerer punkter hvor individer har blitt sensorert fra analysen (som oftest uttak av fisk til kanyleringsforsøk).

Tilvekst

Det var ingen signifikant forskjell i vekt ved forsøksstart mellom de to behandlingsnivåene (**Figur 8**, øvre figur). Utviklingen over tid var signifikant forskjellig mellom de to behandlingene ($p_{\text{behandling} \cdot \text{runde}} < 0,0001$, **Tabell 6**). Den lengde-justerte vekten til torsk som fikk fôr steg signifikant fra 2,98 kg til 3,21 kg etter 4 uker (uke 26), for deretter å stabilisere seg på ca 3,2 kg (**Figur 8**). Den sultede fisken gikk hele tida ned i vekt fra 2,98 kg ved forsøksstart til 2,48 kg ved forsøksslutt.



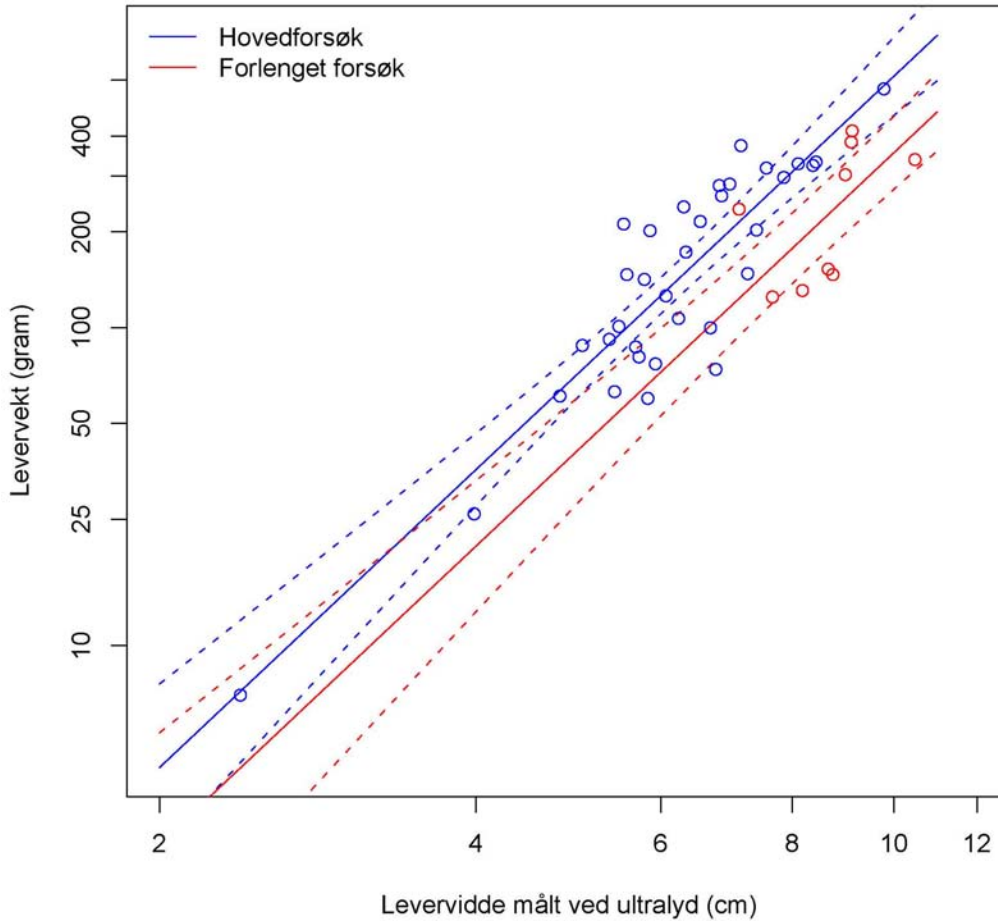
Figur 8. Lengde-justert vektutvikling hos sultet og fôret torsk etter 0, 4, 8 og 12 uker (øvre figur) samt for refôret og videresultet torsk etter 16 uker. Tallene er estimert fra statistikkmodellene som framkommer av hhv **Tabell 6** og **Tabell 9**. De vertikale linjene viser 95 % konfidensinterval. For uke 22 i øvre figur synes ikke fôret behandling da denne er tilnærmet lik sultet behandling. Alle vektene er justert til en torsk med lengde 74 cm.

Utvikling i leverstørrelse

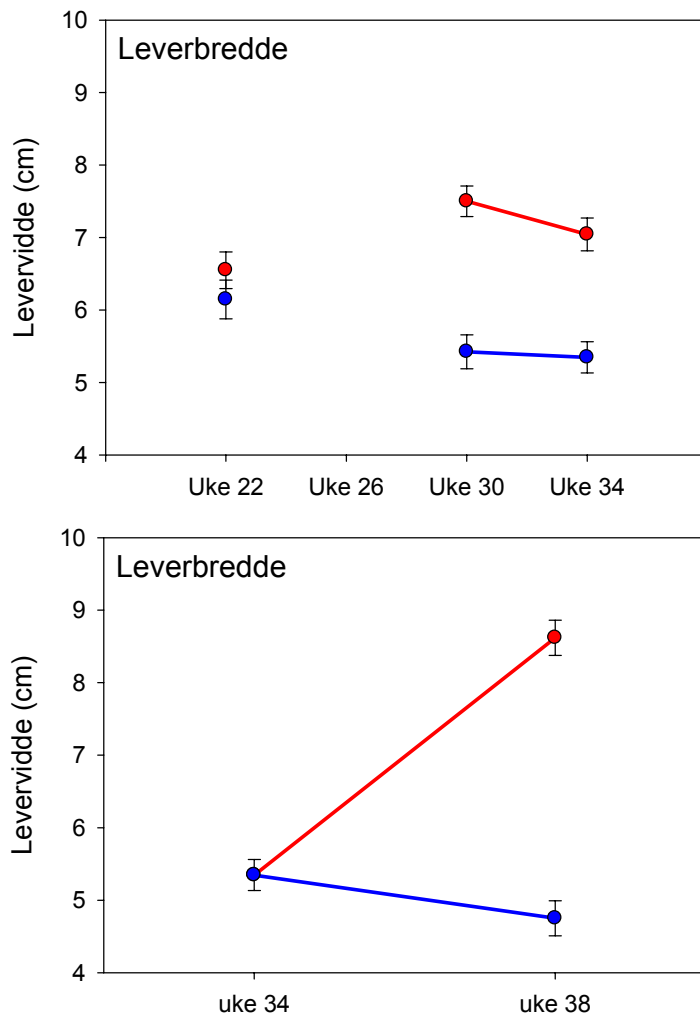
Målefeilen (variasjonskoeffisienten) for ultralydmålingene var på 3,3 % i gjennomsnitt ($\pm 1,6$ S.D.). Ultralydmålingene viste seg som en pålitelig metode for måling av leverstørrelse. Ultralydmålingene var svært korrelerte med målinger av faktisk levervekt ($r = 0.89$, $p < 0.0001$, $n = 157$, **Figur 9**). Det ble imidlertid påvist at metoden er sensitiv for magefylling, så en bør i framtidige målinger bestrebe at fisken ikke er nyfôret når ultralydmålinger skal gjennomføres.

Leverstørrelsen ble første gang målt 5–7 dager etter forsøksstart. Den fôra fisken hadde da tendenser til større lever enn den sultede fisken, men forskjellen var ikke statistisk signifikant ($p=0.32$). Åtte uker senere var leveren signifikant større for fôret fisk enn sultet fisk og denne forskjellen holdt seg ut forsøket (**Figur 10**, øverste panel) til tross for at både sultet og fôret fisk fikk en ikke-signifikant reduksjon i leverstørrelse de siste fire ukene.

Ved refôrning av torsk som hadde vært sultet i 12 uker nesten fordoblet leveren seg etter 4 uker (**Figur 10**, nedre panel) og størrelsen på leveren var for denne gruppen svært signifikant forskjellig fra gruppen som ble sultet i samme periode ($p < 0.0001$, **Tabell 9**).



Figur 9. Forholdet mellom leverbredde ved galleblæra (målt med ultralyd) og levervekt. Verdiene er ln-transformerte for å få de to variablene på samme dimensjon. Den tilpassede regresjonslinja beskriver 80 % av variasjonen og tilpassinga er utført ved å vekte de ulike ultralydmålingene med den inverse av variasjonen rundt snittet av 5 leverdiamettermålinger. Modellen inkluderer effekt av forsøksfase da målingene gjort på individer fra refôringsforsøket var så fulle i magen at det innvirket på leverviddemålet.



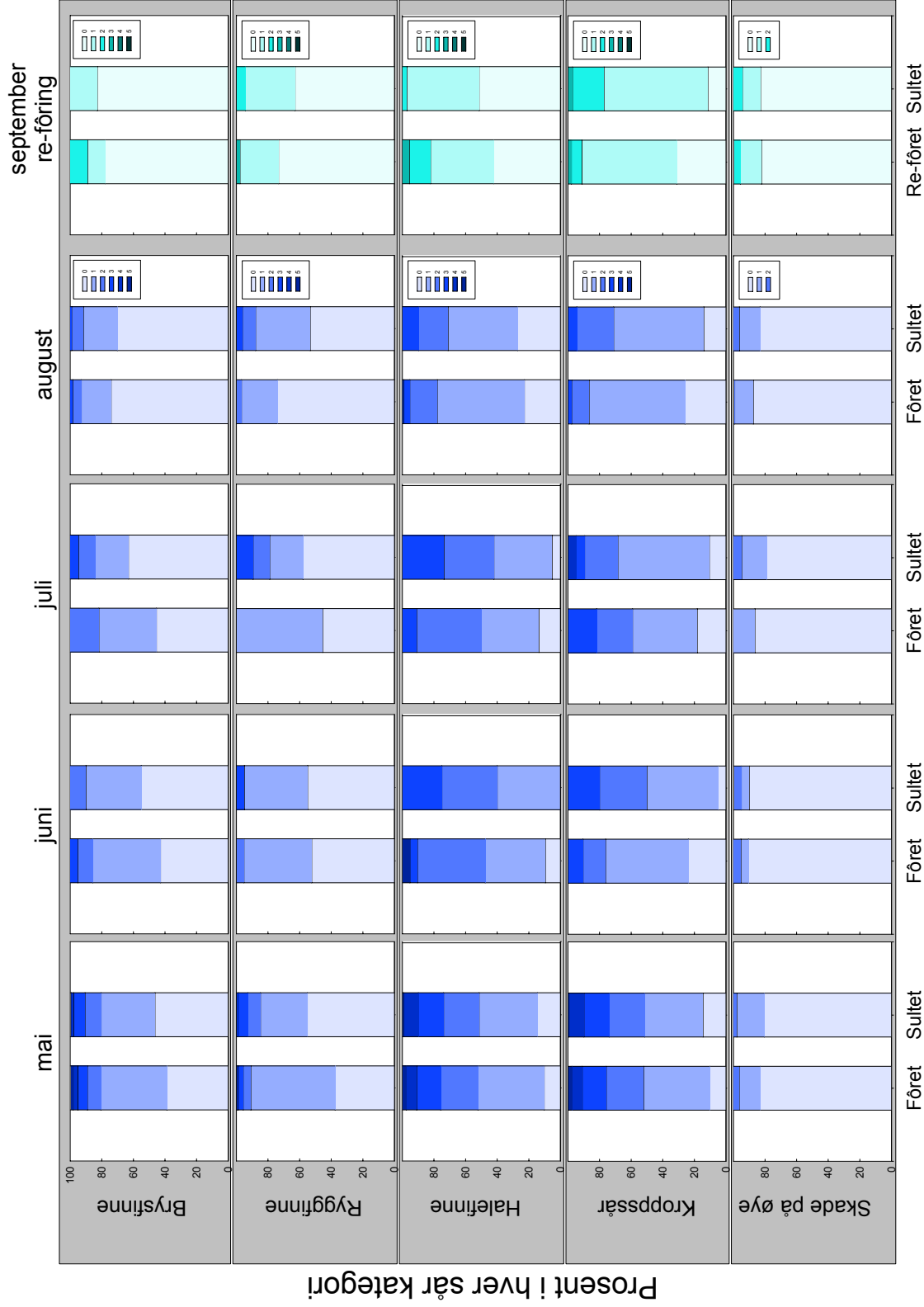
Figur 10. Predikerte leverbredder (levermodellene i **Tabell 6** og **Tabell 9** i Vedleggkapittelet) i forhold til behandling og innsamlingsrunde. Alle leverbreddene har blitt justert til en fiskelengde på 74 cm. De svarte vertikale strekene indikerer 1 standardfeil.

Sårheling

Selv om det ble dokumentert heling av sårskader gjennom forsøket var det få individer som *ikke* hadde skader ved forsøkslutt (**Figur 11**). Skader på kroppen og halefinna var de mest vanlige og mest omfattende skadene (**Figur 11**).

Det var ingen betydelig effekt av fôring på grad av heling for noen av sårskadene annet enn for ryggfinneslitasje ($p_{\text{runde*behandling}} < 0.0001$, **Tabell 9**) og til en viss grad også for skader på selve kroppen ($p_{\text{behandling}} = 0.09$, **Tabell 9**). Fra **Tabell 4** ser vi at en 70 cm lang fôret torsk vil øke sin sannsynlighet for å være i skadekategori 0 for ryggfinneslitasje fra 0.44 til 0.80 i løpet av de 12 ukene forsøket pågår, mens sultet fisk av samme lengde vil ha uendret sannsynlighet (~0.6).

Ved refôring av fisk som var sultet i 12 uker kunne en ikke etter fire uker dokumentere betydelig heling av sårskadene (**Figur 11**, høyre panel, alle $p_{\text{behandling}} > 0.23$).



Figur 11. Sårheling av føret og sultet torsk i både mai, juni, juli og august samt av re-føret og sultet torsk i september.

Tabell 4. Modellpredikerte sannsynligheter for at en torsk skal være i en gitt skadekategori under en gitt behandling og gitt tidspunkt. Se **Tabell 8** i Vedlegget for detaljer rundt modellene som er brukt. For modeller hvor lengde inngår som forklaringsvariabel er prediksjonene angitt for fisk av 70 cm lengde. På grunn av få observasjoner i skadekategori 5 ble 4 og 5 slått sammen.

Skade	Behandling	Runde	Sannsynlighet for å være i skadekategori (70 cm)				
			0	1	2	3	>3
Kropp	Fôret	1	0.197	0.575	0.148	0.063	0.017
	Fôret	2	0.134	0.547	0.198	0.088	0.033
	Fôret	3	0.164	0.566	0.172	0.071	0.027
	Fôret	4	0.235	0.574	0.126	0.054	0.011
	Sultet	1	0.129	0.542	0.203	0.091	0.035
	Sultet	2	0.085	0.477	0.251	0.132	0.055
	Sultet	3	0.106	0.514	0.227	0.110	0.043
	Sultet	4	0.156	0.562	0.178	0.075	0.029
Ryggfinne	Fôret	1	0.439	0.443	0.070	0.048	–
	Fôret	2	0.603	0.332	0.039	0.026	–
	Fôret	3	0.560	0.364	0.046	0.030	–
	Fôret	4	0.797	0.177	0.016	0.010	–
	Sultet	1	0.622	0.318	0.036	0.024	–
	Sultet	2	0.671	0.280	0.030	0.019	–
	Sultet	3	0.666	0.284	0.030	0.020	–
	Sultet	4	0.631	0.311	0.035	0.023	–
Brystfinne	Fôret	1	0.433	0.380	0.111	0.053	0.023
	Fôret	2	0.533	0.334	0.081	0.036	0.016
	Fôret	3	0.581	0.307	0.069	0.030	0.013
	Fôret	4	0.729	0.210	0.039	0.016	0.006
	Sultet	1	0.517	0.342	0.085	0.039	0.017
	Sultet	2	0.616	0.286	0.061	0.026	0.011
	Sultet	3	0.660	0.257	0.052	0.022	0.009
	Sultet	4	0.790	0.165	0.028	0.012	0.005
Halefinne	Fôret	1	0.121	0.427	0.262	0.137	0.053
	Fôret	2	0.111	0.413	0.270	0.147	0.056
	Fôret	3	0.127	0.434	0.257	0.132	0.051
	Fôret	4	0.288	0.492	0.145	0.055	0.020
	Sultet	1	0.066	0.316	0.303	0.216	0.100
	Sultet	2	0.060	0.299	0.304	0.228	0.109
	Sultet	3	0.069	0.324	0.302	0.210	0.096
	Sultet	4	0.171	0.473	0.220	0.100	0.036
Øyeskade	Fôret	1	0.839	0.135	0.026	–	–
	Fôret	2	0.907	0.079	0.014	–	–
	Fôret	3	0.830	0.142	0.028	–	–
	Fôret	4	0.853	0.123	0.024	–	–
	Sultet	1	0.823	0.147	0.030	–	–
	Sultet	2	0.897	0.087	0.016	–	–
	Sultet	3	0.814	0.155	0.031	–	–
	Sultet	4	0.839	0.135	0.026	–	–

Blodfysiologi

Det ble funnet signifikante forskjeller mellom fôrede og sultede fisk for alle målevariabler (bortsett fra pH) på et eller annet punkt i løpet av det 12 uker lange forsøket. Disse forskjellene i tidsforløp-responser framkommer som signifikante runde*behandling interaksjoner i **Tabell 7**. Størrelsen på disse forskjellene var derimot varierende (**Figur 12**).

Det var en stor forskjell i både natrium- og kaliumnivåene mellom de to gruppene etter fire uker, og forskjellen fortsatte gjennom hele forsøket (natrium høyere og kalium lavere hos sultet fisk) (**Figur 12**). Dette indikerer at fisken som ikke får fôr sliter noe med ionereguleringen. Resultatene peker med andre ord i retning av stress, men man ser også en rask restitusjon når fisken refôres (**se tabell 9, Figur 13**).

Glukose begynte noe høyere (ikke signifikant) hos de sultede fiskene ved forsøksstart, men falt gradvis til å nå signifikant forskjellig nivå etter 12 uker (**Figur 12**).

Hematokrit var signifikant høyere i sultet enn fôret fisk etter fire og åtte uker, men etter 12 uker var det ingen signifikant forskjell mellom gruppene eller nivået ved forsøksstart (**Figur 12**). pH varierte mellom 7,34 og 7,46 men var ikke signifikant forskjellig mellom de to gruppene i løpet av forsøket (**Figur 12**).

pCO₂ økte kontinuerlig mellom forsøksstart og uke åtte for så å falle i uke 12, der pCO₂ falt til et signifikant lavere nivå hos sultet enn hos fôret fisk (**Figur 12**).

HCO₃ var signifikant forskjellig mellom gruppene ved forsøkstart og etter fire uker (**Figur 12**). På tross av variasjonen mellom gruppene og i løpet av forsøksperioden, verken steg eller sank verdiene til livstruende nivåer i løpet av forsøket.

Gjenoppfôring av torsk gjør at noen, men ikke alle, målevariabler begynner å vende tilbake til normale (fôrede) nivåer (**Tabell 9, Figur 13**).

Natrium i gjenoppfôret torsk falt til et nivå som var lavere enn kontinuerlig fôret torsk, mens kontinuerlig sultede torsk ikke hadde noen endringer i natriumnivået (**Figur 13**).

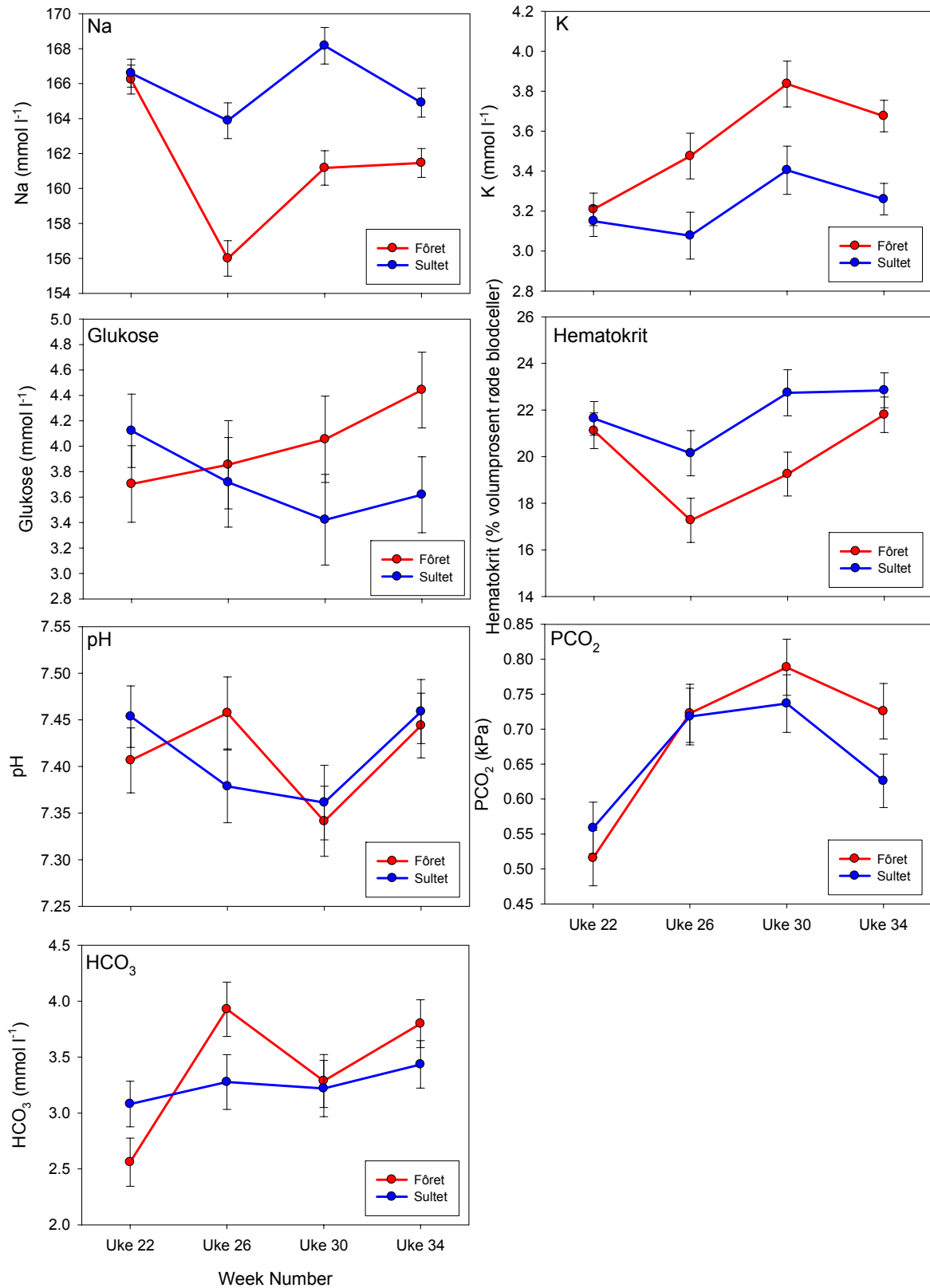
Kalium i blodet til gjenoppfôret fisk steg til noe høyere verdier enn i kontinuerlig fôret fisk, mens nivået i sultet fisk var uforandret (**Figur 13**).

Glukosenivået forandret seg ikke i gjenoppfôret fisk og forble forskjellig fra kontinuerlig fôret fisk. Glukosenivået i kontinuerlig sultet fisk fortsatte å falle signifikant (**Figur 13**).

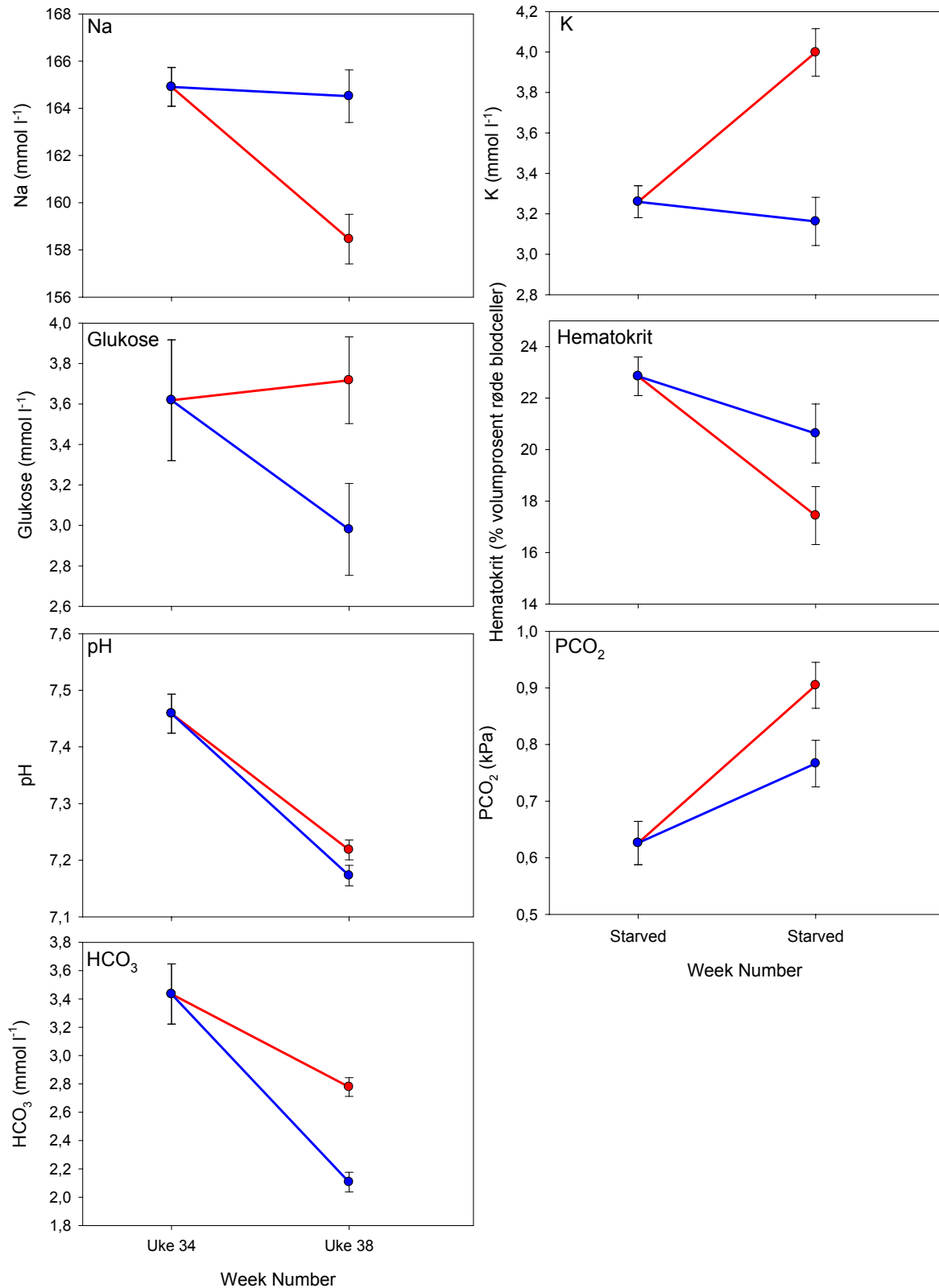
Hematokrit sank i både gjenoppfôret og kontinuerlig sultet fisk, men signifikant mer i gjenoppfôret fisk (**Figur 13**).

Både pH og HCO₃ datt i begge gruppene, men hos den sultede fisken var fallet kraftigere og nådde det laveste nivået i løpet av hele studien (**Figur 13**).

pCO₂ steg i begge gruppene, men signifikant mer hos gjenoppfôret fisk (**Figur 13**).



Figur 12. Blodfysiologi hos sultet og fôret torsk 0, 4, 8 og 12 uker. Vertikale streker indikerer 1 standardfeil. Verdiene er tatt fra prediksjoner generert av modellene i **Tabell 7**.

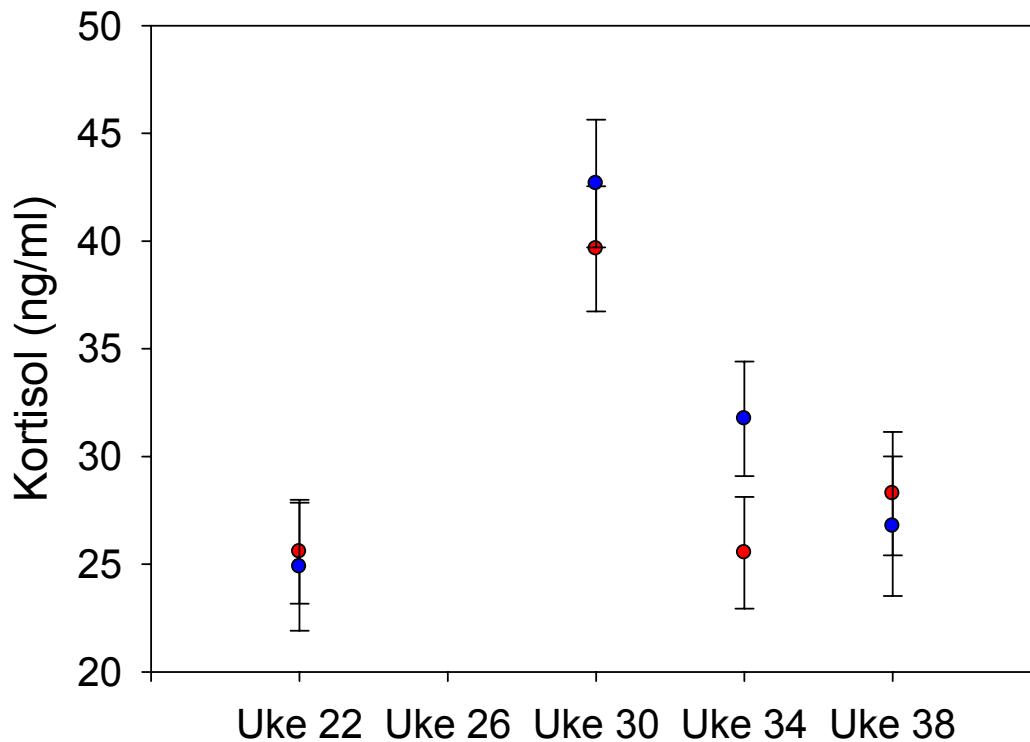


Figur 13. Blodfysiologi hos sultet og gjenoppfôret torsk 12 og 16 uker etter forsøkstart (4 uker gjenoppfôring eller videre sulting etter 12 uker sulting). Vertikale streker indikerer 1 standardfeil. Verdiene er tatt fra prediksjoner generert av modellene i **Tabell 9**.

Hormoner

Begge behandlingsgruppene viste en oppgang i plasmakortisol fra forsøksstart til uke 8 og en påfølgende nedgang til uke 12 (**Figur 14**). De to behandlingsgruppene hadde allikevel en nær signifikant forskjellig tidsutvikling ($p_{\text{runde*behandling}} = 0,067$, **Figur 14**, **Tabell 7**) der den sultede torsk endte opp med høyere plasmakortisolverdier enn den fôrede torsken.

Fire uker med refôring medførte ikke at plasmakortisol var signifikant forskjellige fra de som ble målt i torsk som ble videresultatet i ytterligere 4 uker etter 12 uker ($p_{\text{behandling}}=0.75$, **Tabell 9**).

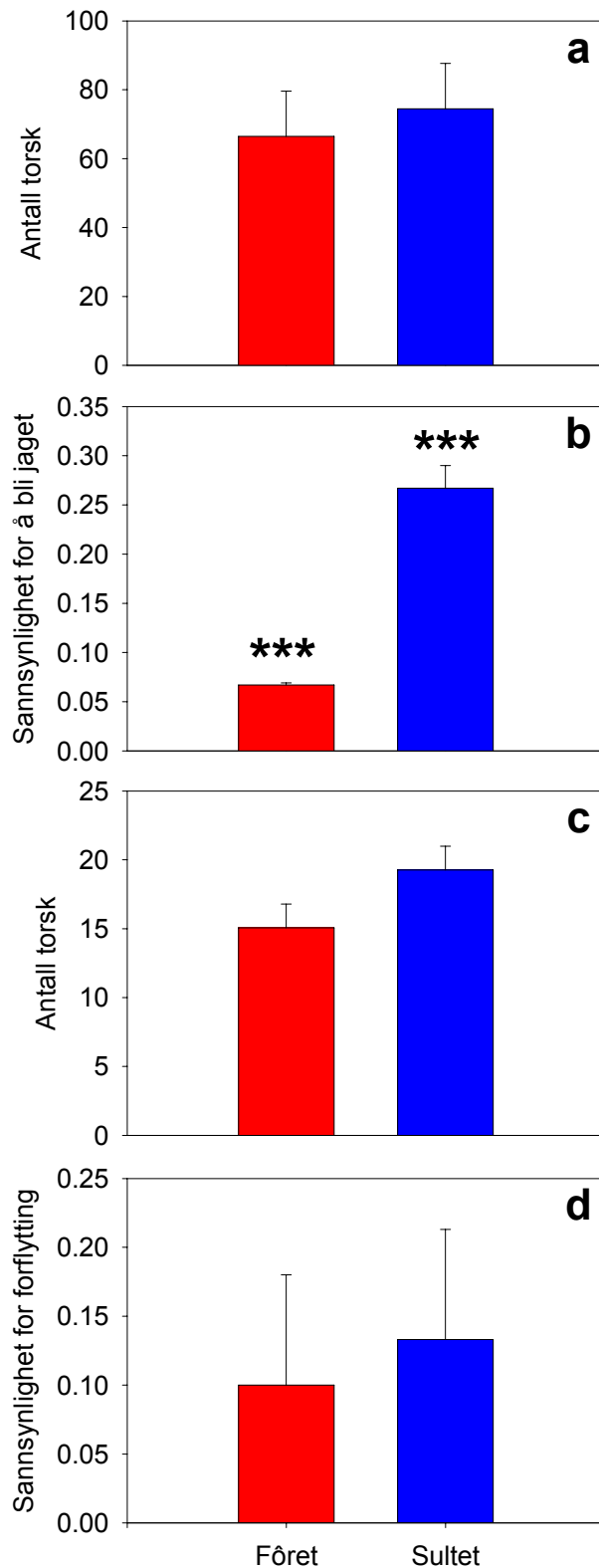


Figur 14. Effektplott av utviklingen i plasmakortisolverdier (ng/ml) fra forsøksstart til 8 uker med sulting. Plottet representerer modelprediksjoner fra plasmakortisolmodellen i **Tabell 7**.

Atferd

Generelt var det liten grad av aggressiv atferd i karene, selv etter at fisken hadde vært sultet i nesten 12 uker. Det ble ikke påvist noen forskjell i aktivitetsnivå (antall fisk som krysser et referanseområde i karet) mellom fôret og sultet fisk i forsøket. Ei heller i forhold til kløaktivitet mot bunnen (vanlig for å fjerne parasitter) ($p_{\text{behandling}} > 0.54$, **Figur 15**).

Selv om det ikke ble dokumentert signifikante forskjeller i fortregning mellom fiskene i fôret og sultet behandling foregikk det signifikant mer jaging blant sultede fisk sammenlignet med fôret fisk ($p_{\text{behandling}} = 0.003$, **Figur 15**) – videoopptakene dokumenterte også en forekomst av kannibalisme i ett av karene med sultet fisk.



Figur 15. Predikerte atferdsforskjeller mellom fôret og sultet torsk (a) Antall individer som krysser linje i karet; (b) Sannsynlighet for å bli jaget; (c) Antall individer som viser kløaktivitet og (d) Sannsynlighet for forflytting. Alle tall er standardisert til 5 minutter. *** indikerer grupper som er signifikant forskjellige med $p < 0,0001$.

6. Diskusjon

6.1 Blodfysiologi

Resultatene viser at man relativt raskt påviser endringer (4–8 uker) i blodfysiologi for en del variabler (Na^+ , K^+ , Hematokrit, Glukose, HCO_3^-) hos torsk som sultes sammenlignet med kontrollgruppa som får fôr. Dette kan sees på som en tilpasning til en periode uten mat. Når fisken tilbys fôr etter 12 ukers sulteperiode, går verdiene tilbake til normalen. Dette indikerer at disse verdiene er følsomme for fôrrestriksjon og kan vurderes som aktuelle velferdsmessige indikatorer. Resultatene peker i retning av at noe osmotisk stress utvikles for behandlingsgruppen som ikke fikk mat. Den velferdsmessige betydning av disse responsene er imidlertid vanskeligere å vurdere, da dette også kan ses på som en metabolsk tilpasning til en fasteperiode. Ved refôring i 4 uker restituerer blodverdiene seg til kontrollfisknivå. Det kunne kanskje med fordel ha vært en større oppløsning på prøvene i refôringsperioden for å se hvor raskt fisken restitueres seg slik at man kunne vurdere velferd i lys av dette, men vi kan i alle fall si at etter 4 uker refôring er verdiene normale igjen. Ingen av verdiene indikerer sammenbrudd i noen av reguleringsystemene eller at fisken ikke er frisk. Vi kan dermed si at man tilfredsstiller ett av velferdskriteriene som er foreslått av Dawkins (2004, se side 24), men ikke begge, siden fisken ville foretrukket å spise om det fikk sjansen. Dette forholdet kan problematiseres. Kaliumkonsentrasjonene steg utover i kanuleringsforsøket. Det er en liten økning i verdiene hos de sultefôrede fiskene i adferdsforsøket også. Økningen er omtrent den samme, men verdiene er noe høyere for fisken i effektstudien. Dette kan indikere et lavere stressnivå hos den kannulerte fisken siden de ikke forstyrres rundt prøvetaking.

6.2 Stress

Kortisolmålingene i kannuleringsforsøket var generelt litt høyere i kannuleringsforsøket (**Figur 6**) enn i effektstudien (**Figur 14**), uten at nivåene reflekterer akutt stress på tidspunkter som følger 2 dager etter kirurgi. Forhold som isolasjon av enkeltfisk og introduksjon til et ukjent karmiljø kan ha bidratt til noe høyere kortisol. Verdiene blir også lavere over tid, noe som ikke tyder på at sulting i seg selv forverrer stressnivået.

Kortisol er et av de viktigste ”stresshormonene”, og er også viktig i reguleringen av andre hormoner og enzymer. Det regnes som et hormon som er nødvendig for at mange viktige metabolske prosesser skal fungere, ved at det er tilstede i prosessene uten å nødvendigvis sette de i gang .. Det opptrer slik blant annet i forbindelse med regulering av blodsukker (glukose) og hjelper også til slik at adrenalin kan fungere effektivt. Det er derfor alltid til stede i visse mengder i blodet. Under stress vil kortisolnivåene øke, noe som fører til frigjøring av glukose fra cellene, som kan sees i blodet ved et forhøyet blodsukkernivå. Under kortvarig stress sørger et forhøyet kortisolnivå for at fisken klarer å tilpasse seg til miljøet og for eksempel flykte fra en fare. Hvis stresset derimot blir langvarig, kan et forhøyet stressnivå (og kortisolnivå) føre til at dyret kan få redusert immunitet og sliter med å tilpasse seg på en god måte. Da vil de samme forandringene som er hensiktsmessige på kort sikt fungere motsatt på lang sikt.

De kortisolverdiene som er funnet i vårt forsøk ligger i hovedsak innenfor et intervall som betraktes som tilstanden for relativt ustressede torsk (20–40 ng/ml). Kortisolnivå for torsk før og under et akutt stress i forhold til temperatur er blant annet beskrevet av King m.fl., (2006). Kortisolnivå post-stress for juvenil torsk (18 g) akklimert til 14, 10 og 4 °C ligger i område 5–30 ng/ml, med de høyeste verdiene målt for den høyeste temperaturen og den laveste verdien ved den laveste temperaturen. Under eksponering for et akutt stress (30 sekunder håving) fant man i dette forsøket en kortisolrespons i størrelsesorden 60–70 ng/ml. Etter 24 timer var kortisolverdiene nede på pre-stressnivå, men denne

gangen med de laveste verdiene for høyest vanntemperatur. Kortisolverdiene i vårt forsøk kan ikke uten videre sammenlignes med responsen ved eksponering for en akutt stressor. Det er en tendens til økning i alle grupper i uke 30 (**Figur 14**) løpet av forsøksperioden, men denne økningen følger også økning i vanntemperatur, noe som er i tråd med resultatene til King m.fl. (2006).

6.3 Vekst, kondisjon og lever

Studien vår viser at torsk responderer raskt i form av vekttap og redusert leverstørrelse når den utsettes for sult. Den innhenter seg også svært raskt når sultet fisk mottar fôr igjen. Allerede etter fire uker er de tilbake til start. Disse resultatene er helt i tråd med andre sulteforsøk som har vært gjort på torsk (Guderley m. fl. 1996; Martinez m. fl. 2004). I og med at torskene i sultegruppa ikke hadde signifikant forskjellig kjøttkvalitet sammenlignet med fisken som mottok fôr betyr dette at kjøttkvalitet er en dårlig indikator på sultstress (Digre 2008), men det betyr også at fisken ikke taper seg som produkt for salg under slike forhold. Andre studier har vist at ekstremt lav kondisjonsfaktor etter en lang periode med sulting, kan ha ugunstig innvirkning på vekstkapasiteten ved at den metabolske kapasiteten nedsettes på grunn av tap av muskelmasse (Dutil m. fl. 1998; Belanger m. fl. 2002; Martinez m. fl. 2003). I denne studien har vi ikke målt muskelmasse direkte – noe som vanskeliggjør vurdering av i hvilken grad muskelmasse gikk tapt.

Leveren viste seg som ventet å respondere raskt på både sulting og refôring. Til en viss grad gjaldt det samme for gonadestørrelsen (Digre 2008). Leverstørrelsen for fisken involvert i denne studien lå godt innenfor de verdier en måler for villfisk. Typiske leverindeksverdier (vekt av lever/totalvekt) varierer mellom 2,5 og 9,2 hos Barentshavstorsk som lever primært på lodde, (Yaragina og Marshall 2000) og verdiene i vårt forsøk lå på $2,7 \pm 1,4$ for den sultede gruppa (etter 12 uker) og $8,3 \pm 3,4$ for den fôrede gruppa. Etter 4 ukers refôring var den sultede gruppa oppe på $5,15 \pm 1,7$, mens den videresultede gruppa nå var nede på $2,3 \pm 1,2$. I følge (Lambert og Dutil 1997) må man, hos torsk i 30–55 cm størrelsen, ned på leverindeksverdier som 0,5–1,5 før man kan snakke om utsultet torsk. I følge dette, som baserer seg på tidsutviklingen under kollapsen hos St. Lawrence-stammen utenfor New Foundland, har ikke vårt forsøk presset leververdiene ned mot kritiske nivåer.

Gjennom dette prosjektet har vi testet ut en ny metode for beregning av leverstørrelse hos torsk. Bruk av ultralyd til dette formålet viste seg velegnet og hadde en presisjon på over 80 %. Dersom man utførte undersøkelsen med utelukkende sultet fisk eller fisk som ikke hadde mottatt fôr på ett døgn økte presisjonen til 86 %. Indeksen virker lovende som en ny overvåkningsvariabel og indikator på foringsstatus og torsk. Dette er en Ikke-dødelig metode som åpner for gjentatte målinger per individ, og den fungerer i vann.

6.4 Atferd

Resultatene indikerer at man kan forvente økt grad av jagingsatferd hos torsk som ikke fôres sammenlignet med torsk som ikke fôres. Dette kan være en forklaring på at de fire tilfellene av kannibalisme (hvor en hendelse ble filmet) som ble registrert i forsøket alle skjedde i gruppen som ikke var fôret. Dette kan indikere at sulting av torsk kan medføre et velferdsmessig problem med tanke på økt risiko for aggressivitet og kannibalisme. Dette er også påpekt av i utredning av forslag til velferdsindikatorer for torsk utført for Mattilsynet (Rosten 2007), samt på liten fisk (Hatlen m.fl., 2006). Vi tror ikke at det noe lavere oksygennivået i karene som ble tilsatt fôr har påvirket adferden til fisken. Torsk er relativt tolerant for moderat lave oksygenverdier (Plante m. fl., 1998). Vi ser heller ingen effekter i forhold til respirasjonsrelevante blodvariabeltrykk. Dersom det noe lavere oksygennivået hos gruppen som ble gitt fôr hadde negativ effekt på fisken vil dette i verste fall ha maskert effekter på f eks atferd og stress. Noe som kan ha gitt mer konservative forskjellsestimater

enn det som faktisk ville være tilfellet dersom oksygennivåene var like. Svømmekapasiteten til fisk som ikke fikk fôr synes ikke nedsatt.

6.5 Skader og overlevelse

Det var en generell sakte, men signifikant helingstrend for de fleste av sårskadene, men generelt en marginal eller ingen effekt av fôring på grad av ”recovery”. Ryggfinner er eneste unntak, der fôret fisk reparerte skadene mer effektivt enn sultet fisk. Dette kan peke i retning av at fôring har betydning for sårheling eller at fôrrestriksjon medfører med finneslitasje. Det siste er i tråd med funn på liten torsk (Hatlen m.fl., 2006)

Resultatene viser at torsken hadde initielle skader av hud, finner og øyne i det den kom inn i forsøket. Den hadde da stått i merd i 14 dager siden fangst. Transportør påpekte og anførte på fraktbrev at fisken var forholdsvis ”stygg” ved innlasting på bil før transporten (Jarle Tveiten, pers. med), og dette indikerer at skaden kom fra fangst og ombordtakning. Skadene leget seg langsam, og ikke komplett ved forsøkstemperaturen (7–10 °C), men det var ingen forskjell på om fisken ble tilbud fôr eller ei med tanke på sårhelingen, med unntak av ryggfinne der helingen var dårligere for fisk som ikke får mat

Imidlertid er det grunn til å rette oppmerksomhet på velferdsutfordringene knyttet til skader som fisken pådrar seg ved fangst og ombordtakning. Det ville vært interessant å gjennomføre tilsvarende forsøk med uskadet fisk.

Det var ikke signifikant forskjell i dødeligheten mellom behandlingsgruppene, det døde like mye fisk i både der den fikk fôr og der den ble fastet (se **Figur 7**). Nå ser det imidlertid ut til at dødeligheten startet tidligere i karene som ikke fikk fôr og dette kan være et tema som kan peke i retning av at fôring har betydning for restitusjon. En slik tolkning er i tråd med retning på funn påpekt av Olsen m.fl., 2008, og bør nok følges opp videre.

6.6 Tema for videre forskning

Selv om dette forsøket ble gjennomført i til dels store kar vil ethvert avvik fra det som er det naturlige sammenligningsgrunnlaget (i dette tilfellet merder eller steng) kunne påvirke resultatene på en slik måte at en får artefakter fra forsøksbetingelsen. Det vil derfor være en naturlig oppfølging av disse forsøkene å gjennomføre undersøkelsene i merder som plasseres i et miljø hvor oppbevaringsaktiviteten naturlig kommer til å finne sted.

Ved en mer naturlig setting vil man kunne studere særlig adferdsbiten mer inngående ved bruk av ulike akustiske metoder som ekkolodd og akustiske sendere. Akustiske sendere har i dag mulighet for å kombineres med ulike typer sensorer som gjør at en har tilgang til betydelig mengde informasjon per fisk. I denne settingen her vil det være aktuelt med dybde- og temperatursensorer samt hjerteratesensorer. Kombinerer en disse med triangulering av mottakerne vil en få tilgang til detaljerte tredimensjonale posisjonsdata (lengde, bredde og dyp) sammen med samtidige temperatur- og hjerteratedata.

Vider vil vi påpeke at det vil være interessant å se på:

- på klassifisering av fangst og ombordtakingsskader
- andre uttrykk for stress
- gjenta forsøk med skadefri fisk
- gjenta forsøk i merd i sjø
- smerte – adferdsforsøk ... hukommelse velferd...eks...unngår stor torsk artsfrender som biter eller har den annen type adferd i merd

- om stresset torsk i hverandres ryggfinne?
- utprøving av ultralyd for leverbredde som feltmåling

7. Konklusjon

Vårt forsøk med villfanget loddetorsk var initiert for å belyse velferd i forbindelse med fôrrestriksjon. Et omfattende arbeid med individuell behandling og registrering av parametere for alle forsøksfisk har blitt utført. Dette avdekket at fisken hadde med seg en rekke kroppslige skader som ikke er forenlig med god velferd. Vi hadde ingen registreringer av forekomsten av disse skadene i forbindelse med innlasting fra merd til transportbil, men det ble umiddelbart rapportert fra transportør at fisken så ”stygg” ut. Så vidt vi vet er det ikke gjort vitenskapelige studier som klassifiserer eller beskriver omfanget av slike typer skader, men samtaler med referansegruppen og Båtsfjordbruket indikerer at skadene vi observerte på fisken er typiske fangst- og ombordtakingskader som oppstår i varierende grad. Vi tar dette til etterretning og påpeker at man bør rette oppmerksomhet mot dette problemet i fremtidige prosjekter innen temaet velferd og levendefangst av loddetorsk. Skadene var likt fordelt i begge forsøksgrupper og det er grunn til å anta at dette forholdet har laget støy i forsøket, på samme måte som inntak i et kunstig karmiljø. Støyen vil kunne lage et bagrunnsstress som vil få utslag både i adferd og fysiologi. Når vi på tross av denne støyen finner signifikante forskjeller mellom torsk som fikk mat og torsk som ikke fikk mat er det grunn til å anta med relativt stor sikkerhet at forskjellen skyldes fôrrestriksjonen alene.

Det ble funnet signifikante forskjeller med tanke på evne til ioneregulering, jagingsadferd og mindre heling av ryggfinneskader, samt også registrert tilfeller av kannibalisme. I tillegg var det åpenbart at dette er en fisk i en livsfase som søker aktivt etter næring og som gjerne vil ha mat når den tilbys dette. Det ble raskt påvist tap av levervekt og total kroppsvekt for fisk som ikke fikk mat. Samtidig viser resultatene at fisken er i stand til å takle en periode uten tilgang på mat og har en enorm kapasitet til å gjenopprette likevekt når den tilbys føde (reføres). Velferdsmessig har vi derfor med et dyr å gjøre som vil spise, men ikke får mat, takler fravær av mat relativt godt, og raskt er i stand til ta igjen det tapte når mat igjen er tilgjengelig. Rent etisk går vel grensen her ikke på hva dyret tåler, men hva som er mulig å gjøre når det er satt i fangenskap. I en slik kontekst peker resultatene i retning av at villfanget loddetorsk skal tilbys mat så snart den er villig til å spise. At tilvenningen til ny mat, i form av død og frossen lodde, tar noen uker er imidlertid ikke problematisk rent fysiologisk for fisken og dermed etisk forsvarlig.

Forsøket har også vist at bruk av leverbredde ved galleblære målt ved hjelp av ultralyd er en lovende ikke-dødelig metode for vurdering av leverstatus for loddetorsk.

8. Referanser

- Andersen, P. and Gill, R. 1982. Cox's regression model for counting processes, a large sample study, *Annals of Statistics*, 10:1100–1120.
(Rand-Weaver og Swanson 1993).
- Ali, M. og R. J. Wootton (2001). Capacity for growth compensation in juvenile three-spined sticklebacks experiencing cycles of food deprivation. *Journal of fish biology* 58: 1531-1544.
- Andersen, P. og R. Gill (1982). Cox's regression model for counting processes, a large sample study. *Annales of Statistics* 10: 1100–1120.
- Ashley, P. J. (2007). Fish welfare: Current issues in aquaculture. *Appl. Animal Beh. Sci.*(104): 199-235.
- Audet, C., Besner, M., Munro, J., and Dutil, J. D. 1993. Seasonal and diel variations of various blood parameters in Atlantic cod (*Gadus morhua*) and American plaice (*Hippoglossoides platessoides*). *Can. J. Zool.* 71: 611-618.
- Azam, K., Mackie, I. M. and Smith, J. (1989). The effect of slaughter method on the quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) during storage on ice. *Int. J. Food Sci. Tech.* 24: 69-79.
- Belanger, F., P. U. Blier og J.-D. Dutil (2002). Digestive capacity and compensatory growth in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Fish Physiology and Biochemistry* 26: 121-128.
- Black, D. og R. M. Love (1986). The sequential mobilization and restoration of energy reserves in tissues of Atlantic cod during starvation and refeeding. *Journal of comparative physiology B* 156: 469-479.
- Blier, P., D. Pelletier og J.-D. Dutil (1997). Does aerobic capacity set a limit on fish growth rate? *Reviews in Fisheries Science* 5(4): 323–340.
- Bohm, R., W. Hanke og H. Segner (1994). The sequential restoration of plasma metabolite levels, liver composition and liver structure in refeed carp, *Cyprinus carpio*. *Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology* 164(1): 32–41.
- Braithwaite, V. A., and Huntingford, F. A. (2004). Fish and welfare: do fish have the capacity for pain perception and suffering. *Animal Welfare* 13: 87-92.
- Chandroo, K. P., Yue, S. and Moccia, R. D. (2004). An evaluation of current perspectives on consciousness and pain in fishes. *Fish and Fisheries* 5: 281-295.
- Claireaux, G., and Dutil, J.D. 1992. Physiological response of the Atlantic cod (*Gadus morhua*) to hypoxia at various environmental salinities. *J. Exp. Biol.* **163**: 97-118.
- Dawkins, M. S. (2004). Using behaviour to assess animal welfare. *Animal Welfare* 13: 3-7
- Digre, H. (2008). Velferdsmessige aspekter av forrestriksjoner for villfanget torsk– Kvalitet loddetorsk. SINTEF Fiskeri og havbruk AS. SFH80 A085052. 16 sider.
- Dobson, S. H. og R. M. Holmes (1984). Compensatory growth in the rainbow trout, *Salmo*

gairdneri. Journal of fish biology 25: 649-656.

Donaldson, E. M. (1981). The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. In Stress and Fish. *Stress and Fish*. A.D. Pickering. London, Academic Press: 11-48.

Dutil, J.-D., G. Godbout, P. U. Blier ogD. Groman (2006). The effect of energetic condition on growth dynamics and health of Atlantic cod (*Gadus morhua*). Journal of applied ichthyology 22: 138-144.

Dutil, J.-D., Y. Lambert, H. Guderley, P. U. Blier, D. Pelletier ogM. Desroches (1998). Nucleic acids and enzymes in Atlantic cod (*Gadus morhua*) differing in condition and growth rate trajectories. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 55: 788-795.

Einen, O., B. Waagan ogM. S. Thomassen (1998). Starvation prior to slaughter in Atlantic salmon (*Salmo salar*) - I. Effects on weight loss, body shape, slaughter- and fillet-yield, rproximate and fatty acid composition. Aquaculture 166: 85-104.

Eliason, E. J., Kiessling A., Karlsson A., Djordjevic B., Farrell A. P., 2007. Validation of the hepatic portal vein cannulation technique using Atlantic salmon *Salmo salar* L. J. Fish Biol. 71 (1), 290–297.

Erikson, U., Sigholt, T. and Seland, A. (1997). Handling stress and water quality during live transportation and slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture 149: 243-252.

Faergemand, J., Røsholdt, B., Alsted, N., and Børresen, T. (1995). Fillet texture of rainbow trout as affected by feeding strategy, slaughtering procedure and storage post mortem. Water Science Technology 31: 225-231.

Fløysand, R. (1993). The atrial accumulation of adrenaline: functional aspects in response to stress in aquacultured Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Department of Biology. Bergen, University of Bergen. MSci.

Foss, A., Kristensen, T., Åtland, Å., Hustveit, H., Hovland, H., Øfsti., A and Imsland. A. Effects of water reuse and stocking density on water quality, blood physiology and growth rate of juvenile cod (*Gadus morhua*). Aquaculture 256, 255-263.

FSBI (2002). Fish Welfare. Fisheries Society of the British Isles. Briefing Paper 2. 25 sider.

Grambsch, P. ogT. Therneau (1994). Proportional hazards tests and diagnostics based on weighted residuals. Biometrika 81: 515–526.

Guderley, H., D. Lapointe, M. Bedard ogJ.-D. Dutil (2003). Metabolic priorities during starvation: enzyme sparing in liver and white muscle of Atlantic cod, *Gadus morhua* L. Comparative biochemistry and physiology Part A 135: 347-356.

Guderley, H., J.-D. Dutil ogD. Pelletier (1996). The physiological status of Atlantic cod, *Gadus morhua*, in the wild and the laboratory: estimates of growth rates under field conditions. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 53: 550-557.

Hall, J. R., C. E. Short ogW. R. Driedzic (2006). Sequence of Atlantic cod (*Gadus morhua*) GLIT4, GLUT2 and GPDH: developmental stage expression, tissue expression and relationship to starvation-induced changes in blood glucose. The journal of experimental biology 209: 4490-4502.

- Harrenstien, L.A., Tornquist, S.J., Miller-Morgan, T.J., Fodness, B.G., Clifford, K.E., 2005. Evaluation of a point-of-care blood analyzer and determination of reference ranges for blood parameters in rockfish. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 226, 255-265.
- Hemre, G. I., Lambertsen, G., and Lie, Ø. 1991. The effect of dietary carbohydrate on the stress response in cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture*, 95: 319-328.
- Huntingford, F. A., C. E. Adams, V. A. Braithwaite, S. Kadri, T. G. Pottinger, P. Sandøe ogJ. F. Turnbull (2006). Current issues in fish welfare. *Journal of fish biology* 68: 332-372.
- Hutchings, J. A., A. Pickle, C. R. McGregor-Shaw ogL. Poirier (1999). Influence of sex, body size and reproduction on overwinter lipid depletion in brook trout. *Journal of fish biology* 55: 1020-1028.
- Ince, B. W. ogA. Thorpe (1976). The effects of starvation and force-feeding on the metabolism of the Northern pike, *Esox lucius* L. *Journal of fish biology* 8: 79-88.
- Jacobs, E., Vadasdi, E., Sarkozi, L., Coman, N., 1993. Analytical evaluation of i-STAT portable clinical analyzer and use by nonlaboratory health-care professionals. *Clinical Chemistry* 39, 1069-1074.
- Jerrett, A. R., and Holland, A. J. (1998). Rigor tension development in excised "rested", "partially exercised" and "exhausted" chinook salmon white muscle. *Journal of Food Science* 63: 48-52.
- Jerrett, A. R., Stevens, J., and Holland, A. J. (1996). Tensile properties of white muscle in rested and exhausted chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Journal of Food Science* 61: 527-532.
- Jittinandana, S., Kenney, P. B., Mazik, P. M., Danley, M., Nelson, C. D., Kiser, R. A., and Hankis, J. A (2005). Transport and stunning affect quality of arctic char fillets. *Journal of Muscle Food* 16: 274-288.
- Jobling, M. ogJ. Koskela (1996). Interindividual variations in feeding and growth in rainbow trout during restricted feeding and in a subsequent period of compensatory growth. *Journal of fish biology* 49: 658-667.
- King, W. ogD. L. Berlinsky (2006). Whole-body corticosteroid and plasma cortisol concentrations in larval and juvenile Atlantic cod *Gadus morhua* L. following acute stress. *Aquaculture Research* 37(13): 1282–1289.
- Knudsen, F. R. (1994). Behavioral, physiological and cellular aspects of stress in fish. Physiological Institute. Oslo, University of Oslo. MSci
- Kristensen, T. 2001. Respiratory and physiological effects of inequilibrium aluminium chemistry on Atlantic cod, *Gadus morhua*, in an estuarine mixing zone. Cand. scient. Thesis. Norwegian University of Science and Technology, NTNU, Department of Zoology.
- Kristensen, T., Rosseland, B.O., Kiessling, A., Djordevic, B. and Massabau, J.C. 2009 Lack of arterial PO₂ downregulation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during normoxia and hyperoxia. Submitted *Aquaculture*.

- Lambert, Y. og J. D. Dutil (1997). Condition and energy reserves of Atlantic cod (*Gadus morhua*) during the collapse of the northern Gulf of St. Lawrence stock. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54(10): 2388-2400.
- Lambert, Y. og J.-D. Dutil (1997). Can simple condition indices be used to monitor and quantify seasonal changes in the energy reserves of Atlantic cod (*Gadus morhua*)? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54(Suppl. 1): 104-112.
- Lambert, Y. og J.-D. Dutil (1997). Condition and energy reserves of Atlantic cod (*Gadus morhua*) during the collapse of the northern Gulf of St. Lawrence stock. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54: 2388-2400.
- Lapointe, D., Guderley, H., Dutil, J.-D. (2006). Changes in the condition factor have an impact on metabolic rate and swimming performance relationships in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Physiological and biochemical zoology* 79(1): 109-119.
- Lemieux, H., P. U. Blier og J.-D. Dutil (1999). Do digestive enzymes set a physiological limit on growth rate and food conversion efficiency in the Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Fish Physiology and Biochemistry* 20: 293-303.
- Lie, Ø., Lied, E., and Lambertsen, G. 1989. Haematological values and fatty acid composition of erythrocyte phospholipids in cod (*Gadus morhua*) fed at different water temperatures. *Aquaculture*, 79: 137-144.
- Lie, Ø., Lied, E., and Lambertsen, G. 1990. Haematological values in cod (*Gadus morhua*) *Fisk. Dir. Skr., Ser. Ernæring*, 3: 11-17.
- Martinez, M., H. Guderley, J.-D. Dutil, P. D. Winger, P. He og S. J. Walsh (2003). Condition, prolonged swimming performance and muscle metabolic capacities of cod *Gadus morhua*. *The journal of experimental biology* 206: 503-511.
- Martinez, M., M. Bedard, J.-D. Dutil og H. Guderley (2004). Does condition of Atlantic cod (*Gadus morhua*) have a greater impact upon swimming performance at Ucrit or sprint speeds? *Journal of experimental biology* 207: 2979-2990.
- Mazeaud, M. M., and Mazeaud, M. (1981). Adrenergic Responses to Stress in Fish. *Stress and Fish*. A. D. Pickering. London, Academic press: 49-76.
- Mendez, G. og W. Weiser (1993). Metabolic responses to food deprivation and refeeding in juveniles of *Rutilus rutilus* (Teleostei: Cyprinidae). *Environmental biology of fishes* 36: 73-81.
- Metcalf, N. B. og J. E. Thorpe (1992). Anorexia and defended energy levels in over-wintering juvenile salmon. *Journal of animal ecology* 61: 175-181.
- Miglav, I. og M. Jobling (1989). The effects of feeding regime on proximate body composition and patterns of energy deposition in juvenile arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Journal of fish biology* 35: 1-11.
- Navarro, I. og J. Gutierrez (1995). Fasting and starvation. *Biochemistry and molecular biology of fishes*. P. W. Hochachka og T. P. Mommsen. New York, Elsevier. 4: 393-434.
- Nelson, J.A., Tang, Y., and Boutilier, R.G. 1996. The effects of salinity change on the exercise performance of two Atlantic cod (*Gadus morhua*) populations inhabiting different

environments. *J. Exp. Biol.* 199: 1295-1309.

Nicieza, A. G. og N. B. Metcalfe (1997). Growth composition in juvenile Atlantic salmon: response to depressed temperature and food availability. *Ecology* 78: 2385-2400.

Olsen, R.E., Sundell, K., Ringø, E., Myklebust, R., Hemre, G-I., Hansen, T. and Karlsen, Ø. 2008. The acute stress response in fed and food deprived Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Aquaculture* 280: 232-241.

Olsen, Y. A. (1993). Decreasing water level and handling as stressors in Atlantic salmon, (*Salmo salar*, L.): Time-course changes in cortisol, glucose and lactate plasma levels. In *Cortisol dynamics in Atlantic salmon, (Salmo salar L). : Basal and stressor-induced variations in plasma levels and some secondary effects.* Department of Zoology. Trondheim, University of Trondheim. Dr.Scient: 1-12.

Pelletier, D., J.-D. Dutil, P. U. Blier og H. Guderley (1994). Relation between growth rate and metabolic organization of white muscle, live and digestive tract in cod, *Gadus morhua*. *Journal of comparative physiology B* 164: 179-190.

Pickering, A. D. (1992). Rainbow trout husbandry: management of the stress response. *Aquaculture* 100: 125-139.

Pidetcha, P., Ornvichian, S., Chalachiva, S., 2000. Accuracy and precision of the i-STAT portable clinical analyzer: an analytical point of view. *J. Med. Assoc. Thai.* 83, 4, 445-450.

Pinheiro, J. C. and D. M. Bates (2000). *Mixed-effects models in S and S-PLUS*. New York, Springer. 528 pp.

Plante, S., Chabot, D., and Dutil, J.D. 1998. Hypoxia tolerance in Atlantic cod. *J. Fish Biol.* **53**: 1342-1356.

Pottinger, T. G. (1995). Fish welfare literature review. In Prepared for the angeling governing bodies liaison group and the british field sports society. 83 sider.

Pottinger, T. G., M. Rand-Weaver og J. P. Sumpter (2003). Overwinter fasting and re-feeding in rainbow trout: plasma growth hormone and cortisol levels in relation to energy mobilisation. *Comparative biochemistry and physiology Part B* 136: 403-417.

Pottinger, T. G., Pickering, A. D., and Hurley, M. A. (1992). Consistency in the stress response of individuals of two strains of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 103: 275-289.

Rand-Weaver, M. og P. Swanson (1993). Plasma somatolactin levels in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during smoltification and sexual maturation. *Fish Physiology and Biochemistry* 11: 175-182.

Robb, D. H. F., Wotton, S. B., McKinstry, J. L., and Kestin, S. C. (2000). Commercial slaughter methods used on Atlantic salmon: determination of the onset of brain failure by electroencephalography. *The Veterinary Record* 147: 298-303.

Rose, J. D. (2002). The neurobehavioral nature of fishes and the question of awareness and pain. *Reviews in Fisheries Science* 10: 1-38.

- Roth, B. (1997). Use of electricity as an anaesthetic within the slaughtering process of Atlantic salmon. . Biological Institute. Bergen, University of Bergen. . Dr.Scient.
- Sangiao-Alvarellos, S., J. M. Guzman, R. L. Carrion, J. M. Miguez, M. P. Martin Del Rio, J. M. Mancera og J. L. Soengas (2005). Interactive effects of high stocking density and food deprivation on carbohydrate metabolism in several tissues of gilthead sea bream *Sparus auratus*. *Journal of experimental zoology* 303(A): 761-775.
- Schwalme, K. og G. A. Chouinard (1999). Seasonal dynamics in feeding, organ weights, and reproductive maturation of Atlantic cod (*Gadus morhua*) in the southern Gulf of St Lawrence. *ICES journal of marine science* 56: 303-319.
- Sigholt, T., Erikson, U., Rustad, T., Johansen, S., Nordtvedt, T. S. and Seland, A. (1997). Handling stress and storage temperature affect meat quality of farmed raised Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Science*.
- Sigholt, T., Rustad, T., Johansen, S., Erikson, U., Nordtvedt, T. S. and Seland, A. (1995). Transport-og slaktstress, effekt på kjøttkvalitet og holdbarhet hos laks.
- Sneddon, L. U. (2002). Anatomical and electrophysiological analysis of the trigeminal nerve in a teleost fish, *Onchorhynchus mykiss*. *Neuroscience letters* 319: 167-171.
- Sneddon, L. U. (2003a). The evidence for pain in fish: the use of morphine as an analgesic. *Applied Animal Behaviour Science* 83: 153-162.
- Sneddon, L. U. (2003b). Trigeminal somatosensory innervation of the head of a teleost fish with particular reference to nociception. *Brain Research* 972: 44-52.
- Sneddon, L. U. (2004). Pain Perception in Fish. *Fish Farmer* 27: 8-10.
- Sneddon, L. U., Braithwaite, V. A., and Gentle, M. J. (2003). Novel Object Test: Examining Nociception and Fear in the rainbow Trout. *The Journal of Pain* 4: 431-440.
- Staurnes, M., Rainuzzo, J.R., Sigholt, T., and Jørgensen, L. 1993. Acclimation of Atlantic cod (*Gadus morhua*) to cold water: Stress response, osmoregulation, gill lipid composition and gill Na-K-ATPase activity. *Comp. Biochem. Physiol.* 109A: 413-421.
- Staurnes, M., Sigholt, T., Pedersen, H.Å., and Rustad, T. 1994. Physiological effects of simulated high-density transport of Atlantic cod (*Gadus morhua*) *Aquaculture*, 119: 381-391.
- Sverdrup, A., Kjellsby, E., Krüger, P. G., Fløysand, R., Knudsen, F. R., Enger, P. S., Serck-Hansen, G. and Helle, K. B. (1994). Effects of experimental seismic shock on vasoactivity of arteries, integrity of the vascular endothelium and on primary stress hormones of the Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Fish Biology* 45: 973-995.
- Ultsch, G. R. (1989). Ecology and physiology of hibernation and overwintering among freshwater fishes, turtles and snakes. *Biological reviews* 64: 435-516.
- Urke, H., Rosten, T., Karlsson, A., Kjøsnes, A.J. and Kristensen, T. Effects of loading density during open transport on the physiology and welfare of Atlantic cod (*Gadus morhua*) juveniles. *In prep*.
- Van de Vis, H., S. C. Kestin, D. H. F. Robb, J. Oelenschläger, B. Lambooi, W. Münkner, H. Kuhlmann, K. Kloosterboer, M. Tejada, A. Huidobro, H. Otterå, B. Roth, N. K. Sørensen, L.

Akse, H. Byrne og P. Nesvadba (2003). Is humane slaughter of fish possible for industry? *Aquaculture Research* 34: 211–220.

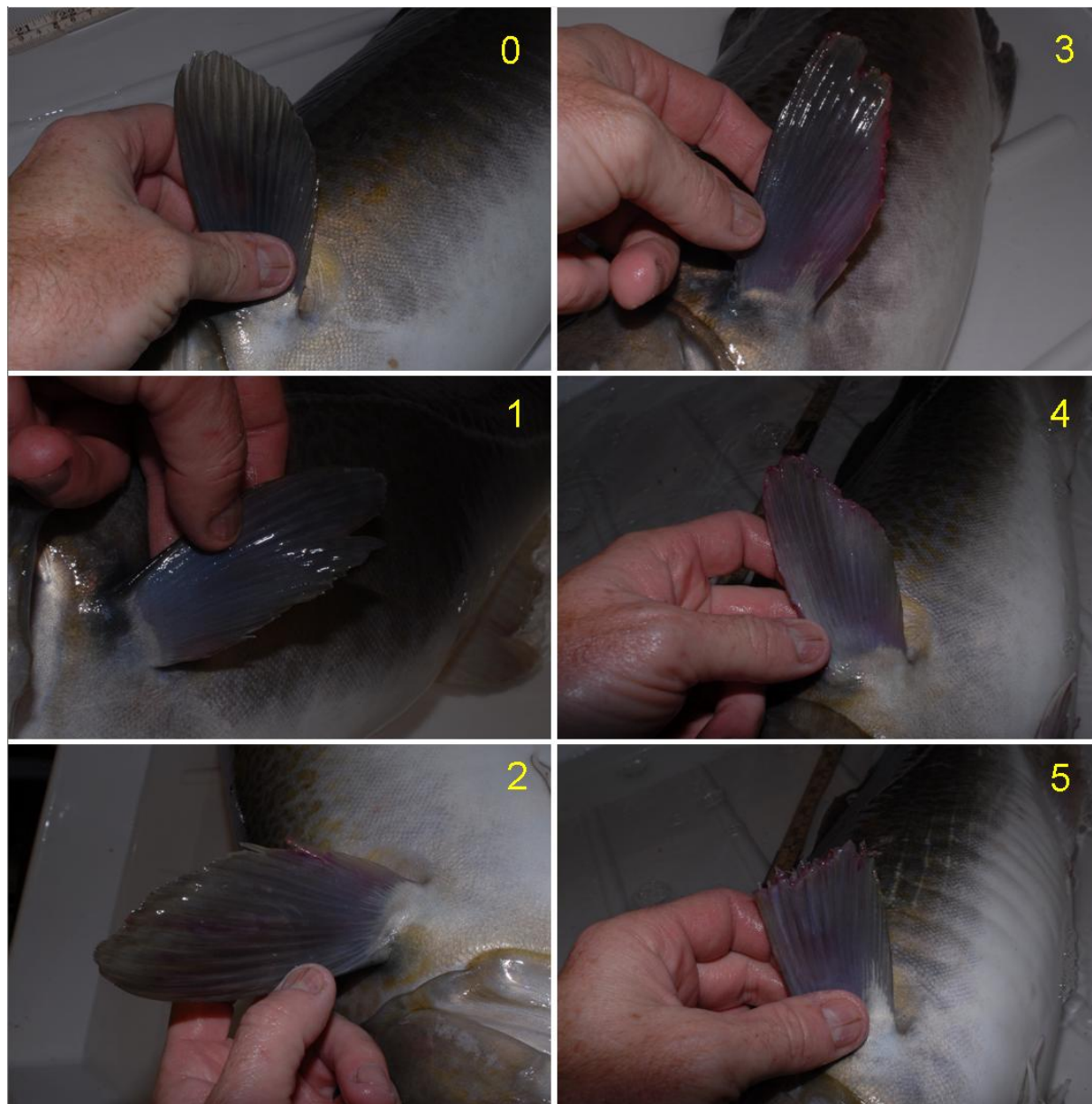
Weatherley, A. H. og H. S. Gill (1981). Recovery growth following periods of restricted rations and starvation in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of fish biology* 18: 195-207.

Wieser, W. (1991). Limitations of energy acquisition and energy use in small poikilotherms: evolutionary implications. *Functional ecology* 5: 234-240.

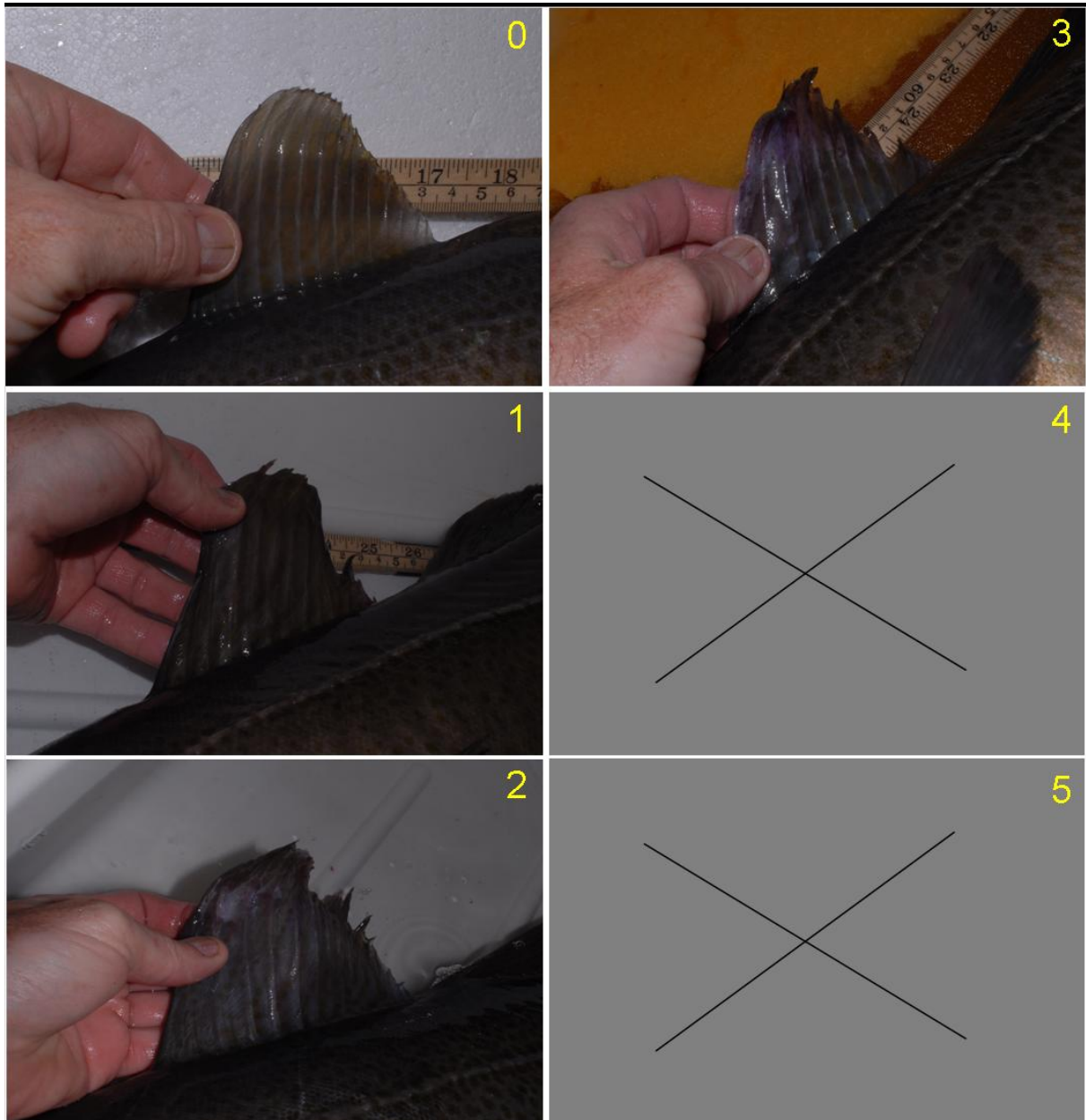
Wolf from, T. (2004). Farmed fish and welfare. Research and Scientific unit, European commission, Directorate-general for fisheries.

Yaragina, N. A. og C. T. Marshall (2000). Trophic influences on interannual and seasonal variation in the liver condition index of Northeast Arctic cod (*Gadus morhua*). *Ices Journal of Marine Science* 57(1): 42-55.

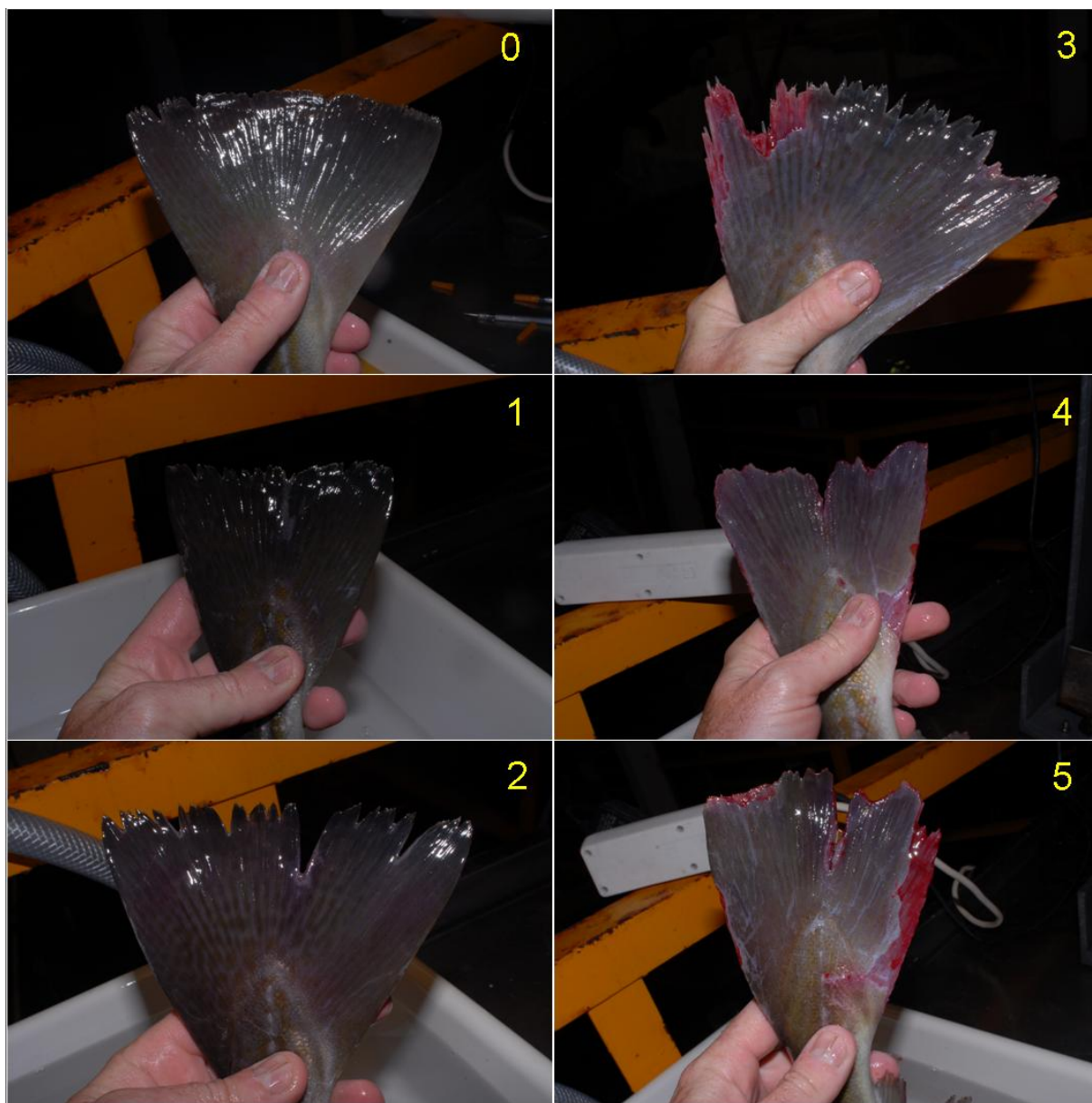
9. Vedlegg



Figur 16. Gradering av brystfinneskader fra 0 (ingen skade) til 5 (høyeste skadegrad).



Figur 17. Gradering av ryggfinneskader fra 0 (ingen skade) til 5 (høyeste skadegrad). Ingen ryggfinner hadde skadegrad 4 og 5 i dette forsøket.



Figur 18. Gradering av halefinneskader fra 0 (ingen skade) til 5 (høyeste grad av skade).



Figur 19. Eksempler på kroppsskader



Figur 20. Eksempler på øyeskader.

Tabell 5. Parameterestimer og modellenes teststatistikk for blodfysiologiske variabler målt i kanyleringseksperimentet, lme-modeller. phi (ϕ) er 1. orden autokorrelasjonskoeffisienten.

Respons	Parameterestimat			Teststatistikk			
	Term	Koeffisient	s.e.	numDF	denDF	F-value	p-value
Natrium	Intercept	163.1455	1.6908	1	41	20427.99	<.0001
	dps	-0.0118	0.0270	1	41	0.19	0.6634
	phi	0.4168					
ln(Glukose)	Intercept	1.8521	0.2384	1	41	152.28	<.0001
	ln(dps)	-0.2624	0.0660	1	41	15.78	<.0001
	phi	0.6375					
Kalium	Intercept	2.5827	0.0600	1	40	6330.60	<.0001
	dps	0.0037	0.0011	1	40	10.79	0.0021
	phi	0.1218					
PCO ₂	Intercept	0.3401	0.0191	1	32	943.69	<.0001
	dps	0.0006	0.0003	1	32	4.34	0.0454
	phi	0.2227					
pH	Intercept	7.9922	0.0181	1	40	359105.90	<.0001
	dps	-0.0019	0.0003	1	40	51.20	<.0001
	phi	-0.3271					
HCO ₃	Intercept	5.8143	0.2012	1	32	1175.87	<.0001
	dps	-0.0111	0.0027	1	32	17.54	<.0001
	phi	-0.6937					
Cortisol	Intercept	58.7734	6.2882	1	47	148.93	<.0001
	dps	-0.2443	0.1028	1	47	5.65	0.0216
	phi	0.4880					

Tabell 6. Statistikktabell for lever- og vektanalysene i effektforsøket: mle-modeller.

Respons	Parameterestimat		Teststatistikk				Random-effekt					
	Parameter	Estimat	S.E.	Term	DF	DF, Den	F Ratio	Prob > F	Term	% av varians	R ² _{adj}	n
Levervidde	Intercept	0.633	0.487	runde	2	109.00	1.038	0.3577	tank(behandling)	0.601	0.683	117
	runde[juli-mai]	0.115	0.213	behandling	1	14.73	1.218	0.2874				
	runde[aug-juli]	-0.267	0.186	behandling*runde	2	109.00	7.960	0.0006				
	behandling[föra]	0.202	0.183	lengde	1	108.80	150.688	<.0001				
	behandling[föra]*runde[juli-mai]	0.836	0.214									
	behandling[föra]*runde[aug-juli]	-0.190	0.184									
	lengde	0.079	0.006									
ln(vekt)	Intercept	-11.551	0.139	behandling	1	4.21	0.042	0.8476	tank(behandling)	1.033	0.934	613
	behandling[föra]	-0.002	0.011	runde	3	601.60	6.485	<.0001				
	runde[juni-mai]	0.004	0.023	behandling*runde	3	601.60	35.484	<.0001				
	week[30-26]	-0.028	0.031	ln(lengde)	1	601.60	8158.773	<.0001				
	week[34-30]	-0.029	0.023	behandling*ln(lengde)	1	601.60	13.909	0.0002				
	behandling[föra]*runde[juni-mai]	0.085	0.023									
	behandling[föra]*runde[juli-juni]	-0.002	0.031									
	behandling[föra]*runde[aug-juli]	0.043	0.023									
	ln(lengde)	2.978	0.033									
	behandling[föra]*ln(lengde)	0.123	0.033									

Tabell 7. Statistikkresultater for blodvariablene i effektforsøket: mle-modeller.

Respons	Parameterestimat		Teststatistikk						Random-effekt			
	Parameter	Estimat	S.E.	Term	DF	DF, Den	F Ratio	Prob > F	Term	% av varians	R ² _{adj}	n
pH	Intercept	7.413	0.022	runde	3	226.90	6.488	0.000	tank(behandling)	10.497	0.167	237
	runde[juni]	0.017	0.012	behandling	1	2.24	0.000	0.986				
	runde[juli]	0.005	0.015	behandling*runde	3	226.90	2.648	0.050				
	runde[august]	-0.061	0.016									
	behandling[föra]	0.000	0.022									
	behandling[föra]*runde[juni]	-0.023	0.012									
	behandling[föra]*runde[juli]	0.040	0.015									
	behandling[föra]*runde[august]	-0.010	0.016									
PCO ₂	Intercept	5.068	0.196	runde	3	226.00	75.848	<.0001	tank(behandling)	26.354	0.574	237
	runde[juni]	-1.028	0.069	behandling	1	2.10	0.292	0.641				
	runde[juli]	0.348	0.085	behandling*runde	3	226.00	9.163	<.0001				
	runde[august]	0.666	0.087									
	behandling[föra]	0.106	0.196									
	behandling[föra]*runde[juni]	-0.268	0.069									
	behandling[föra]*runde[juli]	-0.089	0.085									
	behandling[föra]*runde[august]	0.089	0.087									
Natrium	Intercept	163.552	0.467	runde	3	227.90	26.974	<.0001	tank(behandling)	3.729	0.443	238
	runde[juni]	2.865	0.404	behandling	1	2.06	25.049	0.036				
	runde[juli]	-3.613	0.503	behandling*runde	3	227.90	11.401	<.0001				
	runde[august]	1.116	0.504									
	behandling[föra]	-2.336	0.467									
	behandling[föra]*runde[juni]	2.153	0.404									
	behandling[föra]*runde[juli]	-1.607	0.503									
	behandling[föra]*runde[august]	-1.160	0.504									
Kalium	Intercept	3.386	0.027	runde	3	231.40	7.191	0.000	tank(behandling)	0.000	0.150	241
	runde[juni]	-0.207	0.058	behandling	1	3.15	35.183	0.008				
	runde[juli]	-0.110	0.071	behandling*runde	3	231.40	1.871	0.135				
	runde[august]	0.235	0.072									
	behandling[föra]	0.163	0.027									
	behandling[föra]*runde[juni]	-0.134	0.058									
	behandling[föra]*runde[juli]	0.036	0.071									
	behandling[föra]*runde[august]	0.053	0.072									
HCO ₃	Intercept	3.323	0.132	runde	3	227.40	16.266	<.0001	tank(behandling)	8.750	0.264	237
	runde[juni]	-0.502	0.082	behandling	1	2.87	0.283	0.633				
	runde[juli]	0.279	0.101	behandling*runde	3	227.40	6.564	0.000				
	runde[august]	-0.070	0.103									
	behandling[föra]	0.070	0.132									
	behandling[föra]*runde[juni]	-0.330	0.082									
	behandling[föra]*runde[juli]	0.255	0.101									
	behandling[föra]*runde[august]	-0.036	0.103									
Glukose	Intercept	3.867	0.182	runde	3	230.50	0.714	0.545	tank(behandling)	7.116	0.114	240
	runde[juni]	0.046	0.124	behandling	1	2.99	0.655	0.478				
	runde[juli]	-0.081	0.153	behandling*runde	3	230.50	4.077	0.008				
	runde[august]	-0.128	0.154									
	behandling[föra]	0.147	0.182									
	behandling[föra]*runde[juni]	-0.356	0.124									
	behandling[föra]*runde[juli]	-0.078	0.153									
	behandling[föra]*runde[august]	0.170	0.154									
Hematokritt	Intercept	20.851	0.403	runde	3	228.40	7.975	<.0001	tank(behandling)	2.340	0.162	238
	runde[juni]	0.525	0.406	behandling	1	2.57	6.082	0.105				
	runde[juli]	-2.143	0.502	behandling*runde	3	228.40	1.807	0.147				
	runde[august]	0.147	0.507									
	behandling[föra]	-0.993	0.403									
	behandling[föra]*runde[juni]	0.729	0.406									
	behandling[föra]*runde[juli]	-0.446	0.502									
	behandling[föra]*runde[august]	-0.751	0.507									
Kortisol	Intercept	24.510	5.142	behandling	1	3.14	0.033	0.868	tank(behandling)	11.760	0.344	242
	behandling[föra]	0.347	1.917	runde	2	232.20	44.272	<.0001				
	runde[juli-mai]	15.927	1.738	behandling*runde	2	232.30	2.728	0.067				
	runde[august-juli]	-12.518	1.687	lengde	1	232.00	0.022	0.883				
	behandling[föra]*runde[juli-mai]	-1.864	1.745	lengde*runde	2	231.20	3.094	0.047				
	behandling[föra]*runde[august-juli]	-1.592	1.677									
	lengde	0.010	0.068									
	(lengde-71)*runde[juli-mai]	-0.340	0.137									
	(lengde-71)*runde[august-juli]	0.264	0.143									

Tabell 8. Statistikkresultater for sårskadeanalysene i effektforsøket: glmm-modeller (logit-link).

Respons	Parameterestimater		Teststatistikk				Random-effekt		GOF			
	Parameter	Estimat	S.E.	Term	DF	L-R χ^2	Prob> χ^2	Term	% av varians	χ^2	df	p
Kroppskade	Intercept[0]	0.094	0.632	behandling	1	2.851	0.091	tank(behandling)	1.530	1287.6	13/2123	1,000
	Intercept[1]	2.725	0.644	runde	3	5.915	0.116					
	Intercept[2]	3.959	0.656	runde*behandling	3	3.449	0.328					
	Intercept[3]	5.347	0.692	lengde	1	5.498	0.019					
	behandling[føra]	0.195	0.113	lengde*runde	3	12.244	0.007					
	runde[juni-mai]	-0.217	0.106									
	runde[juli-juni]	-0.230	0.115									
	runde[aug-juli]	-0.455	0.317									
	runde[juni-mai]*behandling[føra]	0.196	0.426									
	runde[juli-juni]*behandling[føra]	0.469	0.334									
	runde[aug-juli]*behandling[føra]	0.357	0.316									
	lengde	-0.685	0.421									
	lengde*runde[juni-mai]	0.453	0.325									
	lengde*runde[juli-juni]	-0.022	0.009									
lengde*runde[aug-juli]	-0.045	0.026										
Ryggfinne	Intercept[0]	1.683	0.485	behandling	1	6.511	0.011	tank(behandling)	4.655	1069.8	10/2660	1,000
	Intercept[1]	3.944	0.511	runde	3	20.498	0.000					
	Intercept[2]	4.918	0.537	lengde	1	15.212	<.0001					
	Intercept[3]	6.748	0.705	runde*behandling	3	19.421	0.000					
	Intercept[4]	8.139	1.116									
	behandling[føra]	-0.290	0.113									
	runde[juni-mai]	0.439	0.332									
	runde[juli-juni]	-0.100	0.438									
	runde[aug-juli]	0.486	0.338									
	lengde	-0.027	0.007									
	runde[juni-mai]*behandling[føra]	0.225	0.332									
	runde[juli-juni]*behandling[føra]	-0.077	0.438									
	runde[aug-juli]*behandling[føra]	0.640	0.338									
	Brystfinne	Intercept[0]	1.304	0.615	behandling	1	0.838	0.360	tank(behandling)	2.633	1171.1	10/2660
Intercept[1]		3.044	0.629	runde	3	49.806	<.0001					
Intercept[2]		4.072	0.645	lengde	1	7.161	0.007					
Intercept[3]		5.312	0.694	lengde*runde	3	8.448	0.038					
Intercept[4]		6.338	0.801									
behandling[føra]		-0.074	0.081									
runde[juni-mai]		0.402	0.320									
runde[juli-juni]		0.193	0.440									
runde[aug-juli]		0.662	0.354									
lengde		-0.023	0.009									
lengde*runde[juni-mai]		0.006	0.026									
lengde*runde[juli-juni]		-0.031	0.037									
lengde*runde[aug-juli]		0.064	0.030									
øyne		Intercept[0]	-0.847	0.640	behandling	1	2.067	0.151	tank(behandling)	0.403	548.9	7/1061
	Intercept[1]	1.104	0.668	runde	3	1.613	0.657					
	behandling[føra]	0.161	0.112	lengde	1	14.182	0.000					
	runde[juni-mai]	0.625	0.543									
	runde[juli-juni]	-0.687	0.672									
	runde[aug-juli]	0.174	0.462									
	lengde	0.035	0.009									
halefinna	Intercept[0]	-2.187	0.148	behandling	1	1.300	0.254	tank(behandling)	22.112	63.8	6/60	0,171
	Intercept[1]	-0.025	0.112	runde	3	48.619	<.0001					
	Intercept[2]	1.233	0.126									
	Intercept[3]	2.663	0.195									
	behandling[føra]	0.085	0.075									
	runde[juni-mai]	-0.080	0.302									
	runde[juli-juni]	0.145	0.401									
	runde[aug-juli]	1.022	0.312									

Tabell 9. Statistikkresultater for refôringsforsøket: mle-modeller.

Respons	Parameterestimater			Teststatistikk					Random-effekt		R ² _{adj}	n
	Parameter	Estimat	S.E.	Term	DF	DF, Den	F Ratio	Prob > F	Term	% av varians		
pH	Intercept	7.196	0.013	behandling	1	1.970	3.235	0.216	tank(behandling)	11.500	0.190	70
	behandling[fôra]	0.023	0.013									
PCO ₂	Intercept	6.282	0.218	behandling	1	1.944	5.690	0.143	tank(behandling)	22.200	0.410	70
	behandling[fôra]	0.519	0.218									
Natrium	Intercept	161.485	0.765	behandling	1	2.231	15.676	0.049	tank(behandling)	0.426	0.192	75
	behandling[fôra]	-3.029	0.765									
Kalium	Intercept	3.580	0.084	behandling	1	2.013	24.887	0.037	tank(behandling)	13.525	0.599	75
	behandling[fôra]	0.418	0.084									
HCO ₃ ⁻	Intercept	2.442	0.048	behandling	1	2.062	49.153	0.018	tank(behandling)	3.166	0.543	70
	behandling[fôra]	0.336	0.048									
Glukose	Intercept	1.161	0.038	behandling	1	2.018	6.691	0.122	tank(behandling)	2.078	0.129	75
	behandling[fôra]	0.097	0.038									
Hematokritt	Intercept	19.029	0.803	behandling	1	1.986	3.939	0.187	tank(behandling)	9.879	0.196	75
	behandling[fôra]	-1.594	0.803									
Kortisol	Intercept	3.271	0.066	behandling	1	2.484	0.129	0.748	tank(behandling)	7.557	0.075	37
	behandling[fôra]	0.024	0.066									
Levervidde	Intercept			behandling	1	1.848	125.092	0.010	tank(behandling)	6.300	0.874	40
	behandling[fôra]	1.934	0.173	lengde	1	36.820	8.319	0.007				
	lengde	0.048	0.017									
ln(vekt)	Intercept	-11.817	0.455	ln(lengde)	1	73.610	803.683	<.0001	tank(behandling)	10.120	0.930	78
	ln(lengde)	3.018	0.106	behandling	1	2.038	21.466	0.042				
	behandling[fôra]	0.113	0.024									