

# Prosjektnotat

## Utfordringer med dagens trengeprosess i ventemerdd

Baseline forsøk hos SalMar

**VERSJON**

FINAL

**DATO**

2015-01-29

**FORFATTER(E)**

Ulf Erikson, Eirik Svendsen, Helene Katrine Moe, Lars Gansell, Hanne Digre

**OPPDRAAGSGIVER(E)**

FHF, Fiskeri og Havbruksnæringens Forskingsfond

**OPPDRAAGSGIVERS REF.**

901007

**PROSJEKTNR**

6021264

**ANTALL SIDER OG VEDLEGG:**

26

**SAMMENDRAG**

Dette notatet beskriver resultater fra et baselineforsøk hos SalMar på Frøya, hvor trengeprosessen fra start trenging inntil all fisk i to avkast hadde blitt pumpet inn til slakteriet.

Totalt sett kan trengoperasjonene hos SalMar denne dagen betraktes som gode fordi fisken hadde til enhver tid rikelig tilgang på oksygen, ble ikke eksponert mot luft, ble ikke ytterligere stresset i avkastene, og bedriften har dessuten konstant videoovervåking av fiskens atferd både over og under vann. Selv om fisketettheten var høy, hadde fisken normal, rolig svømmeaktivitet. Det ble ikke observert perioder hvor fisken hadde tydelig fluktrrespons.

I havbruksnæringen benyttes ulike typer ventemerdder, prosedyrene og utstyr for overvåking av trengeprosessen varierer fra anlegg til anlegg og ikke minst er operasjonen personavhengig med hensyn til graden av oppfølging og overvåking underveis gjennom hele trengeprosessen. Vi vil derfor presisere at resultatene gjelder for SalMar sin ventemerdd under de rådende betingelsene den aktuelle dagen.

**UTARBEIDET AV**

Ulf Erikson

**GODKJENT AV**

Hanne Digre

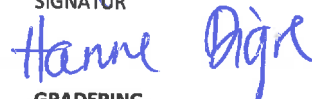
**PROSJEKTNOTAT NR**

2

SIGNATUR



SIGNATUR



GRADERING

Åpen

# Innholdsfortegnelse

<b>1</b>	<b>Innledning</b> .....	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Material og metode</b> .....	<b>3</b>
2.1	Forsøksoppsett.....	3
2.2	Fisk og betingelser på ventemerdd hos SalMar.....	4
2.3	Analysemetoder.....	5
<b>3</b>	<b>Resultater og diskusjon</b> .....	<b>7</b>
3.1	Instrumentering av ventemerdd og vannkvalitet.....	7
3.2	Atferd og visuelle observasjoner.....	15
3.3	Endringer i blodkjemi.....	18
3.4	Stress definert som muskelarbeid og tid til inntreden i rigor mortis.....	21
3.5	Fiskevelferd.....	23
<b>4</b>	<b>Oppsummering</b> .....	<b>24</b>
<b>5</b>	<b>Konklusjoner</b> .....	<b>25</b>
<b>6</b>	<b>Referanser</b> .....	<b>26</b>

## 1 Innledning

Det ble gjennomført en baselinestudie hvor trengeprosessen fra start trenging inntil all fisk i to avkast hadde blitt pumpet inn til slakteriet.

Hensikten med studiet var følgende:

- Øke kunnskapen om trengeprosessen i ventemerdd ved å utføre målinger av fiskens stresstilstand samt utvalgte fysiske parametere relatert til prosessen.
- Gi input til eventuelle forbedringer av dagens trengeprosedyrer med dagens teknologi.
- Gi input til eventuelle nye sensorsystemer samt hjelpemidler for prosesskontroll

Studiet ble gjennomført ved SalMar sitt prosesseringsanlegg på Frøya i Sør-Trøndelag og er beskrevet nedenfor.

## 2 Material og metode

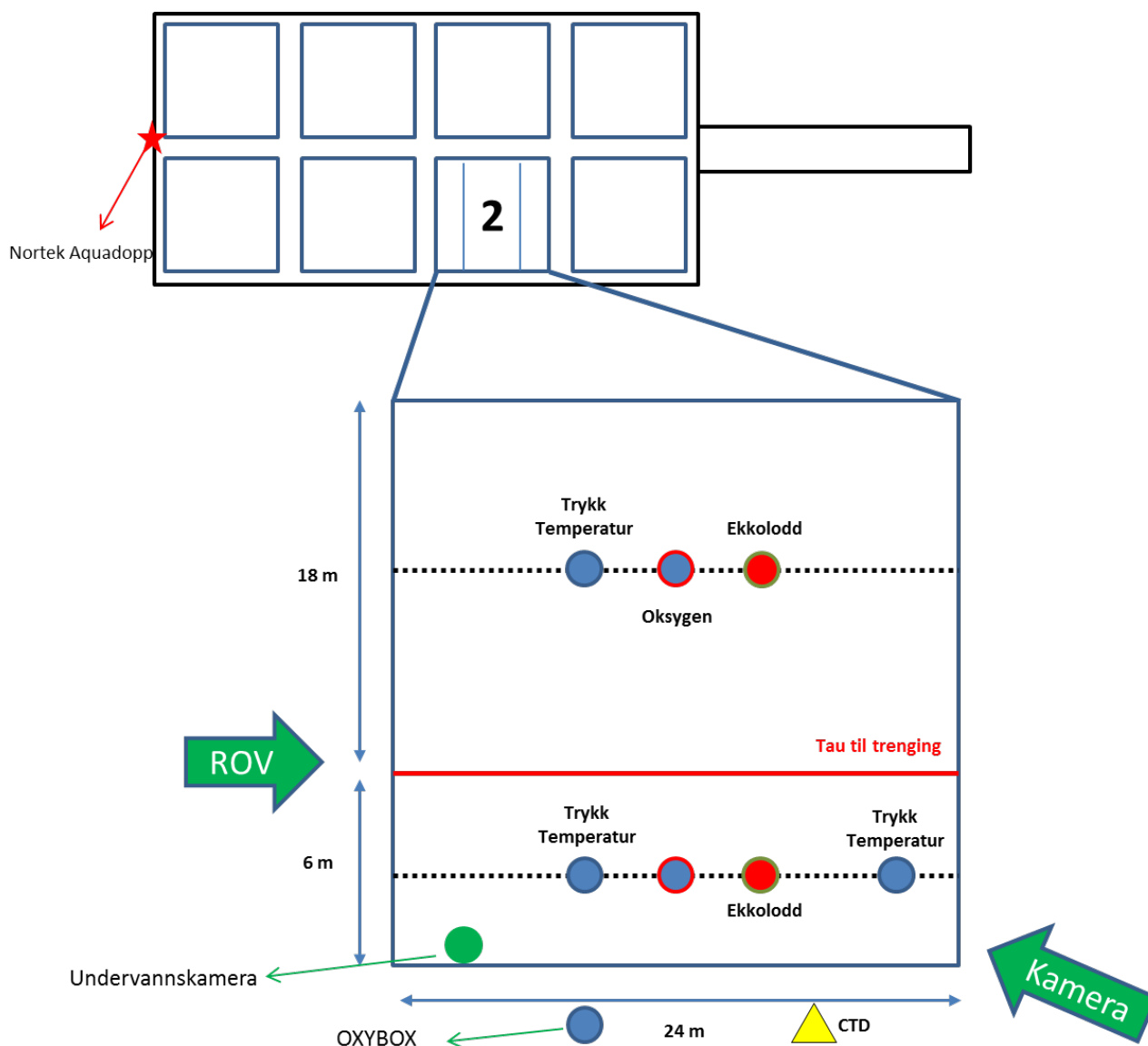
### 2.1 Forsøksoppsett

En baselinestudie som omfattet to hele trengeprosesser av laks i samme ventemerdd ble gjennomført hos SalMar i oktober 2014. I tillegg ble det tatt ut fisk etter pumping til slakteri. SalMar sine ventemerdder er vist i Figur 1.



*Figur 1 - Laks til prosessering og forsøk ble tatt ut fra Ventemerdd 2 som er andre ventemerdd i rekken på venstre side i bildet. Bildet viser også plasseringen av de doble trykk/vakuumpumpene som forsyner slakteriet med fisk. I brakken til høyre for pumpen styres og overvåkes trengeprosessen.*

Instrumenteringen i Ventemerdd 2 som ble benyttet under forsøket besto av følgende sensorer: 2 oksygenmålere (basert på optisk måling, såkalte 'optoder'), 3 trykk/temperaturmålere (registrering av trykk på not og vannndybde), og 2 ekkolodd for tetthet/biomassemåling (Figur 2). I tillegg ble hele trengeprosessen kontinuerlig filmet med et kamera plassert ved rekkverket rundt Ventemerdd 2. En miniubåt (ROV) filmet sporadisk og vekselvis trengeprosessen i avkast og fisk i samme merdd utenfor avkastet. Fiskens atferd ble analysert i ettertid fra disse filmopptakene. I tillegg ble trengeprosessen overvåket på skjerm i kontrollrom på merdd da SalMar har sitt eget kamerasystem neddykket i hver enkelt ventemerdd.



Figur 2 - Instrumenteringsoppsett og plassering av ulike sensorer i Ventemerd 2 hos SalMar. Instrumentene logget data kontinuerlig gjennom hele forsøket. En miniubåt (ROV) ble benyttet for vekselvis å filme fisk i og utenfor avkastet. Over vann ble trengeprosessen filmet med et fastmontert kamera (grønn pil merket 'Kamera')

## 2.2 Fisk og betingelser på ventemerd hos SalMar

Fisken som ble benyttet i forsøket var sultet i 144 døgngrader (~12 dager) i SalMar Farming AS sin lokalitet (Merd 4) på Værøya (Hitra) og den ble transportert med brønnbåten M/S Rofjell (lasterom: 2 x 2250 m<sup>3</sup>) i 3 ½ time ved en fisketetthet på omlag 68 kg/m<sup>3</sup>. Total biomasse for denne transporten var 305 979 kg (69 383 fisk med snittvekt 4,41 kg). All fisk ble overført til Ventemerd 2 mellom kl. 01:00 – 03:00 den 7. oktober 2014, omlag 30 timer før forsøket startet kl. 06:30 den 8. oktober. Det må imidlertid nevnes at omlag 10 000

fisk ble slaktet den 7. oktober i tidsrommet mellom kl.16:45 – 18:25 noe som reduserte fisketettheten fra omlag 33 kg/m<sup>3</sup> til 29 kg/m<sup>3</sup>.

Det var sterk sidestrøm mot merdsystemet som sørget for god vannutskifting. Sjøtemperaturen var 12,2°C på forsøksdagen. Referansecisk ble først tatt ut før første avkast ble satt. Deretter ble det tatt ut fisk i ulike tidsintervall fra to trenginger i samme merdsystem (Tabell 1). En fisk i gangen ble raskt håvet ut og avlivet med slag i hodet (innen 5-10 sek) før det ble tatt blodprøve for analyse av pH, laktat, glukose og kortisol. Deretter ble pH i hvit muskel og kroppstemperatur målt. Fisken ble merket med nummer og gaffellengde og rundvekt ble registrert før den ble lagt på is i isoporkasser. Fisken ble deretter sporadisk sjekket med hensyn til begynnende dødsstivhet.

Laksen som ble benyttet til forsøk hadde følgende størrelsesdata (middelverdi ± SD): 4,4 ± 0,3 kg og 64 ± 6 cm, n=65).

I første avkast (trenging) ble det tatt ut omlag 12 000 fisk (52 920 kg) til prosessering i løpet av 2 ½time (tømt avkast kl. 10:04). Etter tømning ble det omgående tatt nytt avkast i samme merd (hvor referansecisken tidligere ble tatt ut fra). I andre avkast ble tilsvarende mengde tatt ut i løpet av 2 ¼ timer.

Ytterligere et nytt avkast ble deretter satt i merden. Vi tok ut to fisk men det ble besluttet av SalMar at det heller skulle slaktes fisk fra en annen merd (som vi ikke hadde instrumentert opp). Data for de nevnte to fiskene er ikke vist her.

*Tabell 1– Oversikt over uttak av fisk, trengintervall og tidslinje for hendelser relatert til to trengeprosesser i ventemerd.*

Nr.	Gruppe	N	Klokkeslett for uttak av fisk	Trengintervall (min)	Kommentarer
1	Referanse	8	06:38 – 07:13	-	Fisk i merd tatt ut 12 timer etter siste trenging (slakting dagen før)
2	Første trenging	10	07:28 – 08:13	0 - 40	Avkastet settes (t = 0 min). Start pumping fra avkast kl 07:55
3	Første trenging	10	08:26 – 09:10	55 - 100	
4	Første trenging	6	09:25 - 10:04	115 - 155	Siste fisk ut (avkast tømt)
5	Andre trenging	10	10:35 – 11:25	30 -80	Nytt avkast settes i samme merd (t = 0 min)
6	Etter pumping	10	11:00	55	Fisk hentet på slakteri ved slagmaskin
7	Andre trenging	9	11:45 – 12:08	100 - 120	Inkluderer siste individer ut fra avkast

## 2.3 Analysemetoder

*Atferd* – Fiskens svømmeatferd ble vurdert på basis av videoopptak under og over vann (se Figur 2), ved sporadisk observasjon på skjerm in-situ basert på SalMar sitt eget undervannskamera, og visuelt av SINTEF-personell som var tilstede ved merdkanten hele dagen.

*Respirasjon* - Pustefrekvensen ble telt ved å observere utvalgte individer over en gitt periode basert på videoopptak med undervannskamera. Pustefrekvensen ble målt i 10 fisk i den trengte delen (avkast) og i samme merd utenfor avkastet under første og andre trenging.

*Kortisol* – Blod for analyse av kortisol ble sentrifugert (6000 g ,5 min) med en VWR Galaxy Mini Micro Sentrifuger C1213 (VWR, West 19 Chester, PA, USA). Plasmaet ble deretter lagret i kryo-rør ved -20 °C inntil analyse. Kortisol ble målt ved en radioimmunoassay metode beskrevet av Iversen et al. (1998).

*Blod-pH* – pH i blodet ble målt umiddelbart etter kutting av aorta ved bruk av et pH-meter tilsvarende det som ble brukt for måling av pH i muskel (se nedenfor).

*Glukose i blod* – Glukosemengden i blod målt ved bruk av epoc<sup>®</sup> som er et instrument som kan måle flere blodparametre samtidig. For hver ny blodprøve settes en kassett inn i instrumentet. Noen dråper blod føres inn i instrumentet og etter kort tid avleses resultatet direkte på instrumentets skjerm (her glukose i mmol/L).

*Laktat i blod* - En 'målestrimle' fuktes med noen få dråper helblod fra en blodprøve. Strimlen settes inn i et meter (Lactate Scout+, SensLab GmbH, Leipzig, Tyskland) og laktatverdien avleses direkte i mmol/L etter få sekunder.

*Initiell pH i muskel* - Økt muskelaktivitet (f.eks. ved fluktrespons eller 'sprelling') fører til at pH i muskelen synker fra et hvilenivå på pH  $7,5 \pm 0,1$ . For å unngå effekt av videre pH-reduksjon post mortem må pH måles like etter død (initiell pH). Initiell pH måles ved at elektroden stikkes direkte inn i ryggmuskelen umiddelbart etter avliving (et snitt gjennom skinnet må skjæres først med skalpell). En skjermet WTW SenTix 41 glasselektrode (WTW, Weilheim, Tyskland) koplet til et portabelt pH meter (model WTW 315i) ble benyttet.

*Pre-rigor tid* – Dersom fisken blir utsatt for håndteringsstress som for eksempel i forbindelse med trenging og avliving, er det velkjent at inntreden i rigor mortis skjer raskere enn når fisken behandles skånsomt. Metoden som ble anvendt var Rigor status-metoden som er en subjektiv, sensorisk metode basert på følgende skala:

- 0: Ingen rigor
- 1: Svak rigor, begynnende rigor eller nesten ute av rigor
- 2: Hele fisken i rigor
- 3: Sterk rigor

I denne undersøkelsen ble kun tiden det tok før fisken ble gradvis stiv registrert.

### 3 Resultater og diskusjon

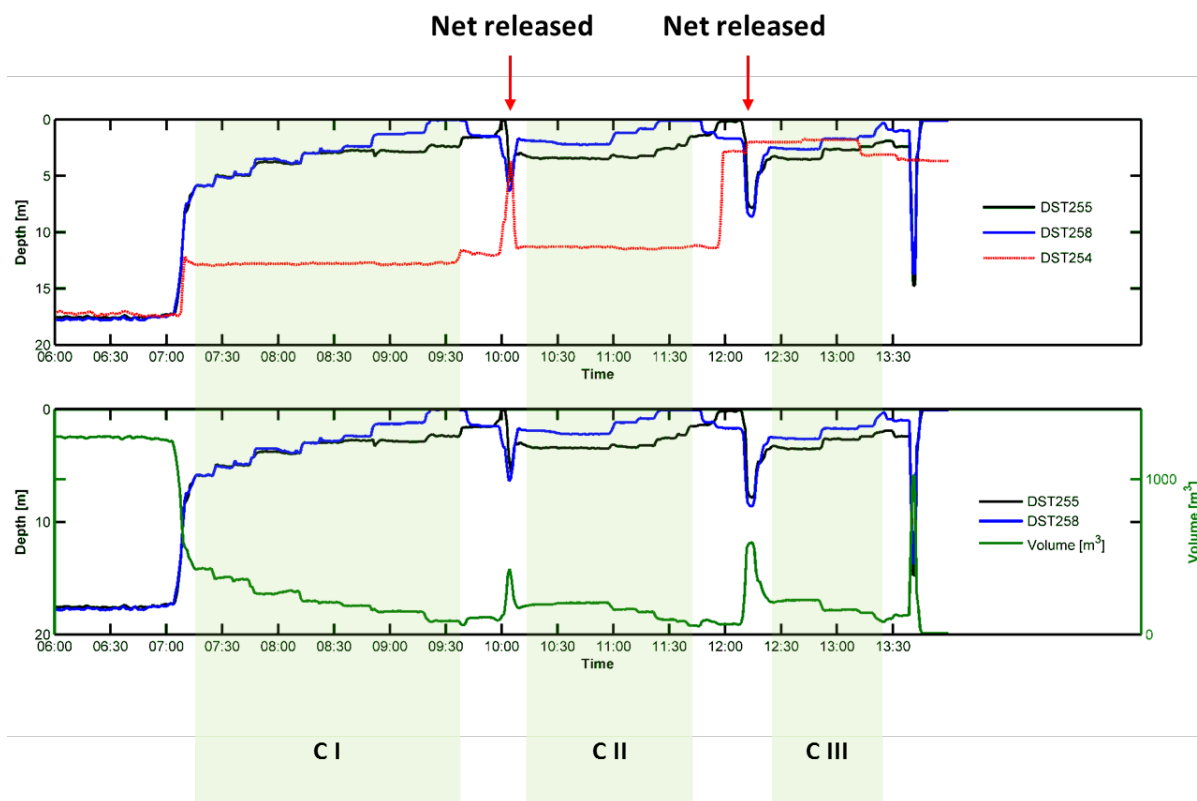
#### 3.1 Instrumentering av ventemerd og vannkvalitet

Valg av instrumentering til forsøket er basert på tilbakemelding fra industrien om hvilke parametere trengoperasjoner i ventemerd gjerne ønskes styrt etter (Erikson et al., 2015). Disse er oksygennivå, fisketetthet, pumperate og atferd. Optoder ble benyttet til oksygenmålinger, ekkolodd og trykksensorer ble benyttet for å måle fisketetthet. Temperatur- og saltholdighetsprofiler samt ulike kameraløsninger ble benyttet for å studere atferd.

Den øverste delen til Figur 3 viser resultatene fra dybdesensorene som var festet til nota. De tre trengesyklusene (siste trenging ble etter en stund avbrutt slik at det kun ble tatt ut to fisk fra dette avkastet, se ovenfor) som ble gjort er illustrerte med grønn skravering i figuren. Den røde kurven viser dybden til bunnen av nota i delen av ventemerden som ikke lines opp under trenging. Den sorte og blå kurven viser dybden til bunnen av nota på to steder (se Figur 2). Som det går fram av Figur 3 heves notbunnen mer og mer fram til nota slippes ned før neste trengesyklus.

Den sorte og blå kurven i den nederste delen til Figur 2 viser resultatene fra dybdesensorene som var festet til nota i delen av ventemerden som lines opp under trenging. Den grønne kurven i den nederste delen til Figur 3 viser volum estimert på bakgrunn av dybdemålingene og antatt form i den delen av ventemerden som lines opp under trenging. Den blå og sorte kurven viser dybden til bunnen av nota på to steder og er lik den øverste delen av Figur 3. Som det går fram av den grønne kurven er volumet minst mot slutten av hver trengesyklus.

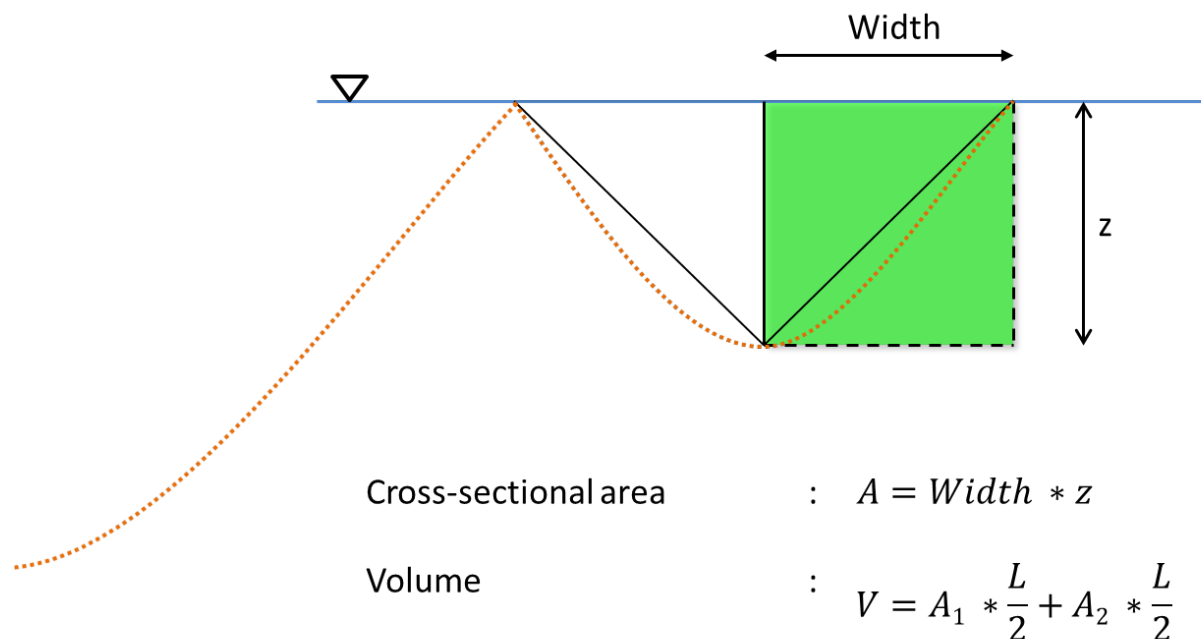
Slike volumestimater (Figur 4) kan benyttes som metode til å beregne gjennomsnittlig fisketetthet i den trengte delen av merden dersom man ønsker å finne en metode for å vite hvor mye fisk som befinner seg i avkastet.



Figur 3 - Dybdemålinger og volumestimat i ventemerd. De grønne sonene (C I-C II) illustrerer tidsvinduerne for tre trengteoperasjoner i samme merd. Det ble tatt ut fisk fra start til slutt i C I og C II. **Øverste figur** - Rød kurve: notbunnens dybde i ikke-opplinet del; Blå og sort kurve: dybde av notbunn på to steder i delen av merden som lines opp. **Nederste del** – Blå og sort kurve: dybde av notbunn på to steder i delen av merden som lines opp. Grønn kurve: Estimert vannvolum i avkast under trenging.

Merk at det i dette forsøket kun ble benyttet 2 trykkmålinger for estimering av volum i delen som lines opp. Det er også antatt en forenklet form til det trengte volumet (se Figur 4). Dette gir tilsammen opphav til unøyaktighet i volumestimatet. Dersom flere trykkmålinger benyttes, vil man kunne oppnå et mer nøyaktig estimat.

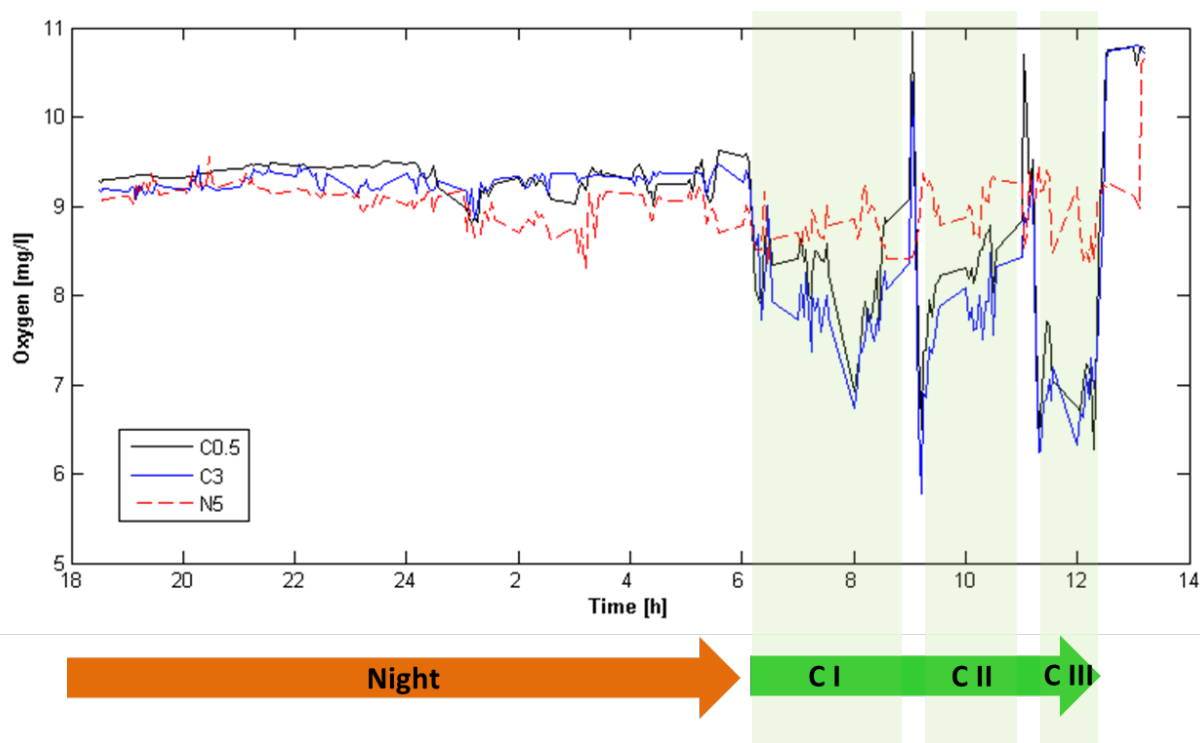




With  $A_1$  and  $A_2$  are areas based on DST255 and DST258 and L is the cage length (24m).

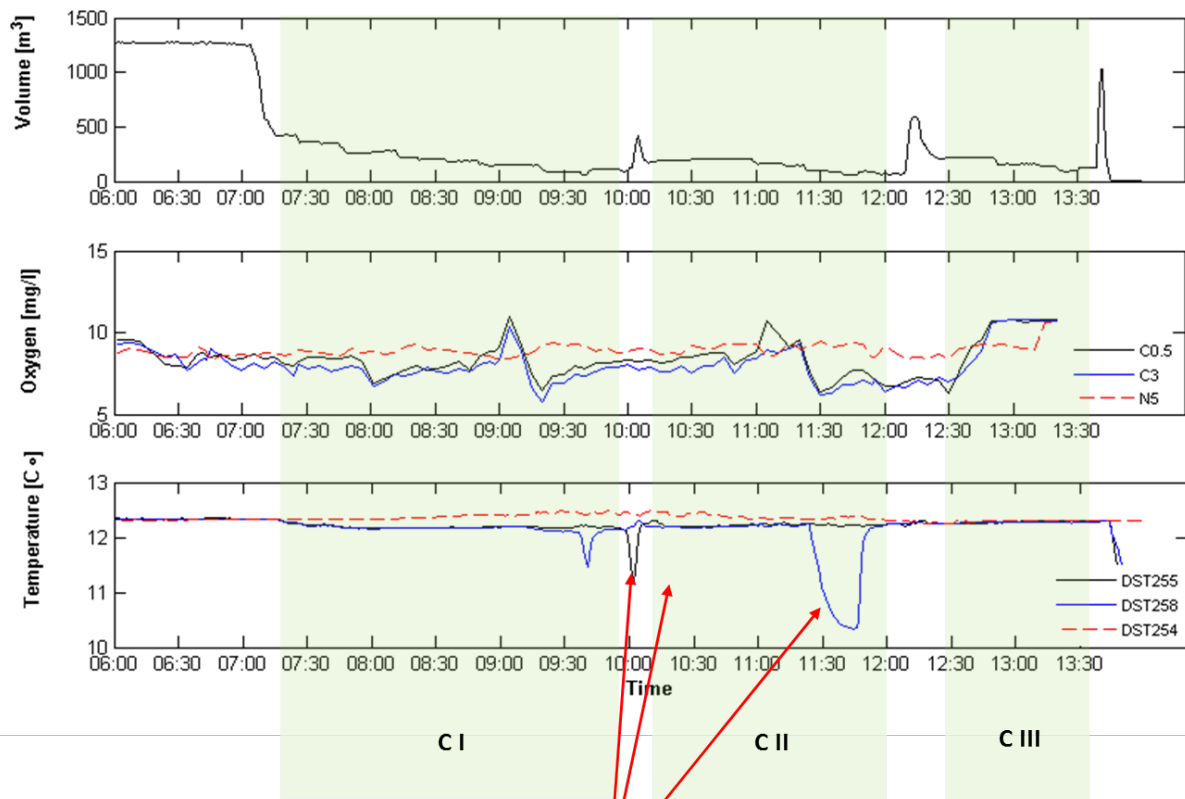
Figur 4 - Metode for estimering av volum i trengt del av merd.

Figur 5 viser resultatene fra oksygenmålerne. Den røde kurven viser resultater fra 5 m dyp i delen av ventemerden som ikke lines opp under trenging. Den sorte blå kurven viser resultater fra henholdsvis 0,5 m og 3 m dyp i delen av ventemerden som ble linet opp under trenging. Tre trengesykluser er illustrert med grønn skravering i Figur 5 og er merket henholdsvis CI, CII og CIII. De store variasjonene som vises mellom trengeperiodene skyldes trolig at oksygenoptodene ble utsatt for luft mellom trengingene. Oksygenivået (DO) i merden natten før avkastene ble satt varierte mellom 8,5 og 9,5 mg/L. Ved en den aktuelle sjøtemperaturen (12°C, se Figur 6) er oksygenmetningskonsentrasjonen lik 8,7 mg/L ved en salinitet på 34. Nivået av DO varierte følgelig mellom 98 og 109 % metning. For fisken som stod i merden utenfor avkastene varierte DO mellom 106 og 95 % metning i perioden hvor trengoperasjonene ble foretatt. I de tre avkastene varierte DO mellom følgende verdier, CI: 78 - 100 % metning, CII: 80 - 108 % metning, og CIII: 78 - 93 % metning. Vi kan dermed konkludere med at fisken til en hver tid hadde rikelig med tilgang på oksygen.



Figur 5 – Oksygenivåer målt ved 12°C i Ventemed 2 natten før forsøket startet og under tre trengesykluser neste dag (skraverte i grønt). Det ble tatt ut fisk til analyse under trenging CI og CII. Rød kurve: på 5 m dyp i merd utenfor avkast; Blå kurve: 3 m dyp i avkast; Sort kurve: 0,5 m dyp i avkast.

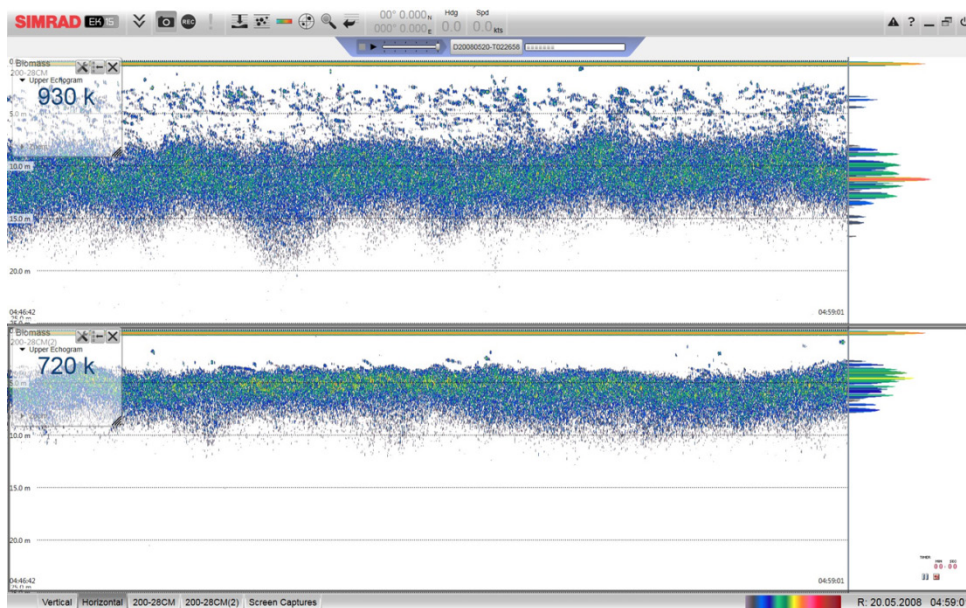
I Figur 6 er de tre trengesyklusene, skravert i grønt og merket hhv CI, CII og CIII, sammenstilt i én figur. For de tre trengesyklusene vises estimert volum, oksygeninnhold og temperatur. Lokaliteten har god vanngjennomstrømming så det var liten variasjon i oksygeninnhold og temperatur. Som forventet ble volumet gradvis redusert fram mot slutten av hver trengesyklus.



Surfacing of oxygen sensors?

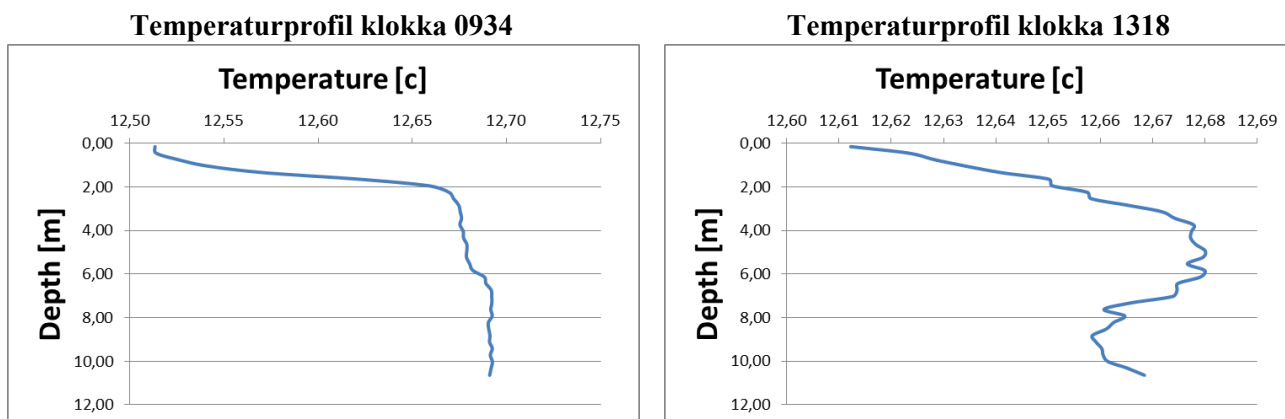
Figur 6 - Sammenstilling av volum av avkast, oksygenivå og temperatur under tre trengeprosesser (CI, CII og CIII) i Ventemerden 2. Med hensyn til oksygenivå, se Figur 5 for fargekoding av kurvene.

Figur 7 viser resultatene fra ekkoloddene som ble benyttet under forsøket. Den øverste delen av Figur 7 viser siden av ventemerden som ikke ble linet opp under trenging. Den nederste delen viser siden av ventemerden som ble linet opp under trenging (avkast). Teknologien som ble benyttet er i utgangspunktet ment å brukes for å si noe om hvorvidt det var fisk eller ikke i strålen fra ekkoloddet. Systemet som ble benyttet kan, basert på styrken til ekkoet, estimere biomassen som befinner seg innenfor området til strålen per skudd, ettersom antall svømmeblærer gir styrken til det totale ekkoet. Dette er imidlertid kun et estimat.

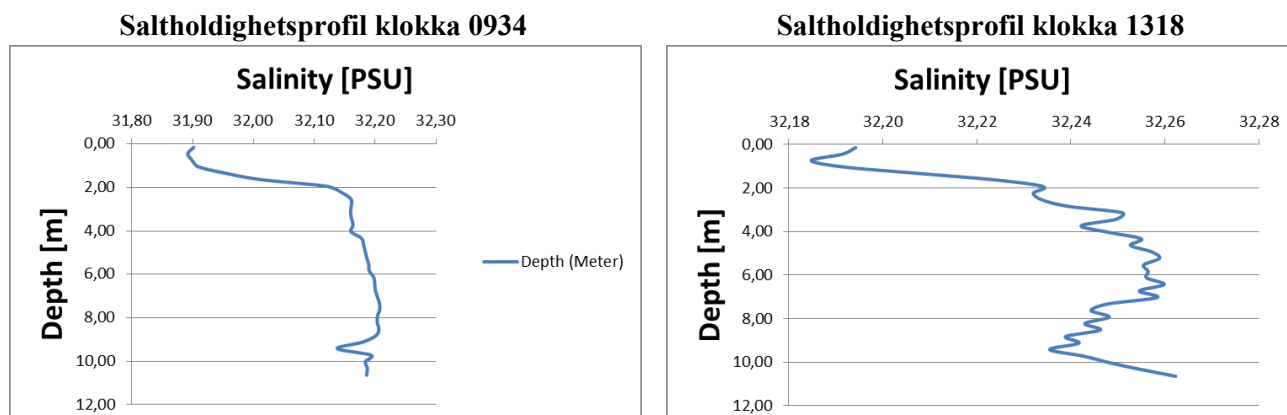


Figur 7 – Ekkoloddmålinger foretatt i Ventemerd 2.

Figur 8 og Figur 9 viser henholdsvis temperatur og salinitet som funksjon av dybde i ventemerden. Profilene er registret henholdsvis kl. 09:34 og 13:58, altså mot slutten av første og tredje trenging. Det var liten forskjell mellom temperatur og salinitet i overflaten og ned mot 10 meters dyp.

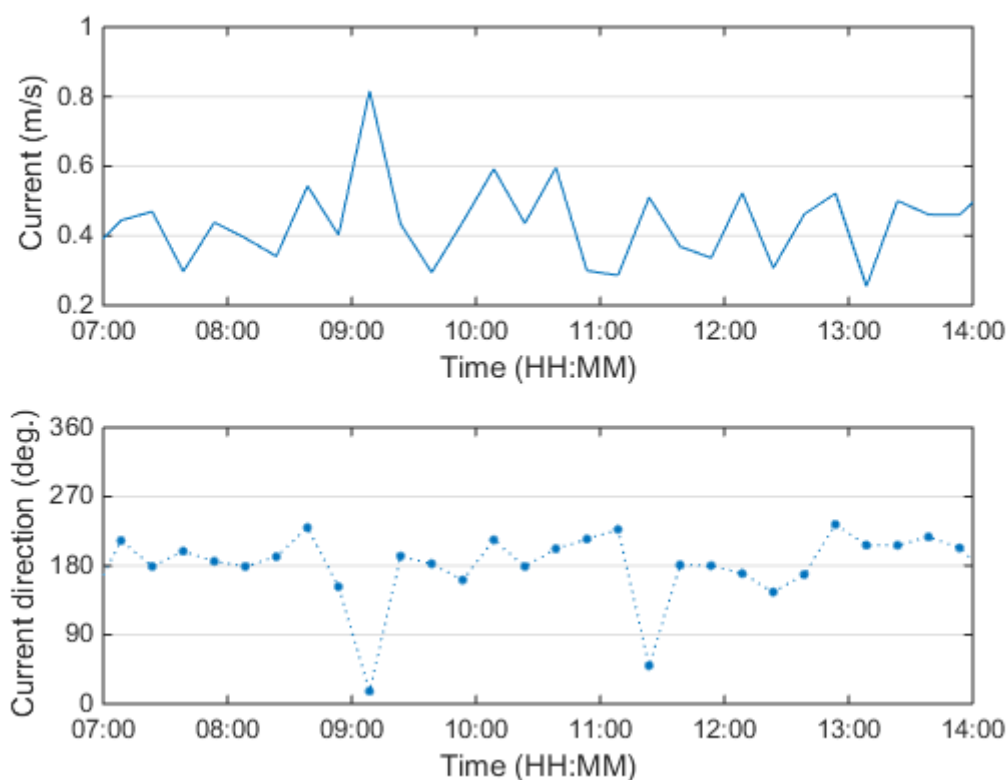


Figur 8 – Temperaturprofiler (temperatur ved ulike vanndybde) i ventemerd 2 ved to tidspunkt (første og tredje trenging).



Figur 9 - Saltholdighetsprofiler (salinitet ved ulike vanndybde) i ventemerid 2 ved to tidspunkt (første og tredje trenging).

I Figur 10 tilsvarer 0 grader en nordgående strøm ('current direction'), 90 grader en østgående strøm, 180 grader en sørgående strøm, og 270 grader en vestlig strøm. Tidsintervallet dekker alle tre trengoperasjonene. Vi ser at strømretningen i hovedsak var relativt konstant sørgående under trengeprosessene. Strømningshastigheten, vist i samme figur, varierte mellom 0,3 og 0,8 m/s.



Figur 10 - Strømstyrke og strømretning målt.

Ute på ventemerden har SalMar et display som viser antall fisk som pumpes inn til prosessering. Sporadisk observasjon av dette utover dagen viste at omlag 2 fisk/sek ble pumpet fra avkastene til prosessering.

I tillegg til logging av de ulike parametrene vist i Figur 2, ble også løst oksygen og pH målt sporadisk med håndholdte metere i løpet av begge trengesprosessene. Det ble fortatt punktmålinger ulike steder i avkastene. På grunn av høy tetthet i hele avkastet var det ikke aktuelt å spesielt oppsøke og måle i soner med *a priori* antatte 'worst case'-situasjoner. DO-verdiene målt under strek trenging varierte mellom 75 – 94 % metning og det var ingen systematisk variasjon på ulike steder i avkastet. Disse verdiene samsvarer godt med de loggede verdiene (Figur 5 og 6). Videre ble pH-fordelingen i avkastet målt på tilsvarende måte. Verdiene varierte mellom pH 8,0 og 8,1 noe som er typisk for rent sjøvann. Siden det ikke ble målt lavere verdier viser dette at nivået av karbondioksid (avfallsprodukt fra fiskens metabolisme) var neglisjerbart. Som nevnt ovenfor (Figur 10) var strømningshastigheten gjennom ventemerdsystemet god noe som sikret tilstrekkelig tilførsel av oksygen og fjerning av avfallsstoffer, til tross for at fisketettheten var svært høy ved en relativt høy sjøtemperatur (12 °C).

### 3.2 Atferd og visuelle observasjoner

Figur 11 viser situasjonen i Ventemerd 2 tidlig i andre avkast (andre trenging). Vi ser at fisken står tett over i hele volumet nær overflaten. Figur 12 viser situasjonen rundt pumpeinntaket sent i første avkast.

I løpet av hele trengeprosessen var det ingen åpenbar variasjon i fisketetthet i avkastet, basert på visuell observasjon av fisk i vannoverflaten. Fisken svømte rolig mellom hverandre der hvor det var plass slik at det ikke var et fast og strukturert svømmemønster. På grunn av den høye tettheten er det grunn til å tro at fisken ikke selv kan bestemme retning og svømmemønster. Fisken må svømme der det er ledig plass. Det er spesielt viktig å påpeke at svømmeaktiviteten var rolig, typisk for aerob metabolisme og framdrift ved bruk av rød muskel. Det ble observert meget få tilfeller av fluktrespons som ville ha forårsaket aktivering av hvit muskel og anaerob metabolisme (se resultater for laktat og pH nedenfor). Dette inntrykket ble forsterket ved periodevis observasjon av fiskens svømmemønster som vist på skjerm i SalMar sitt kontrollrom (Figur 13). Selv om fisken syntes å stå svært tett som vist på figurene nedenfor, så situasjonen 'bedre' ut når fisken ble filmet under vann. Det synes som om fisken hadde større plass og mer rom for bevegelse. Svømmeatferden var rolig.



*Figur 11 - Trenging av laks i andre avkast i en tidlig fase av trengingen. Pumpeuttaket kan sees på motsatt side. Ulike sensorer neddykket i merden ble festet til tauene over merden (se Figur 2). Legg merke til at notveggene er rette slik at det ikke ble dannet lommer med grunt vann hvor fisken kunne eksponeres mot luft.*





Figur 12 - Trenging av laks i første avkast (første trenging) i en sen fase av trengingen. Fisketettheten syntes generelt å være relativt lik i hele avkastet (overflateobservasjon). Til høyre, utenfor avkastet, sees en del Ventemerid 2 hvor resten av fisken ble holdt.

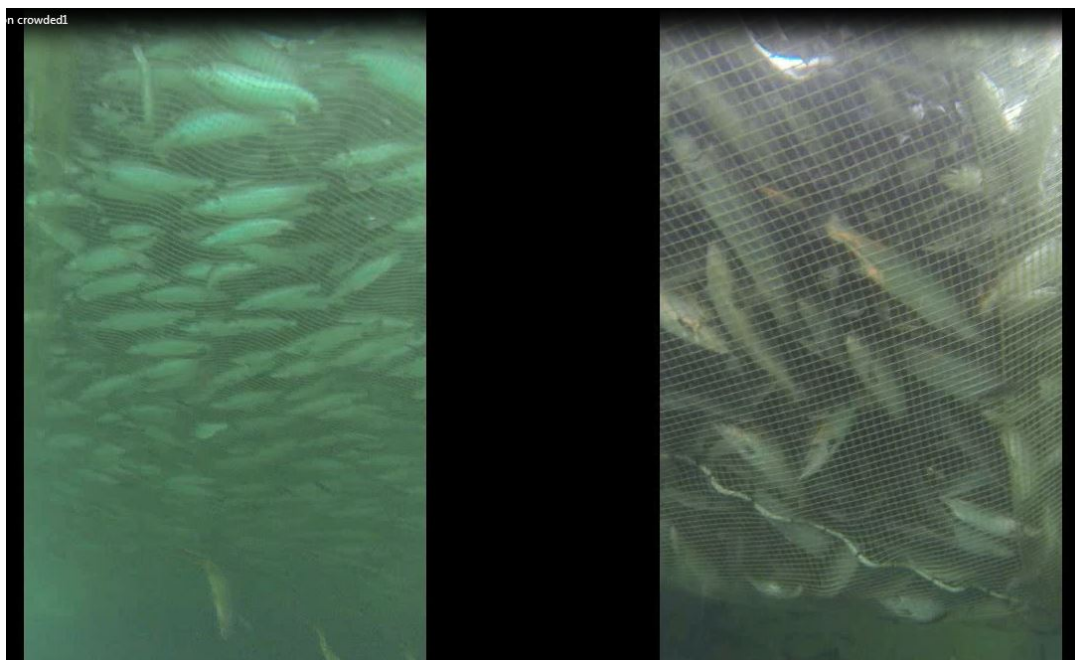


Figur 13 - SalMar overvåker trengeprosessen på ventemerid blant annet ved bruk av kameraer plassert over og under vann. Trengingen i Ventemerid 2 er vist i midterste bilde øverst. Sporadisk observasjon av fiskens atferd på denne skjermen i løpet av trengingen i de to avkastene viste at fisken svømte rolig i merden til tross for den meget høye fisketettheten.



Basert på filmsekvenser tatt opp av ROV'en ble fiskens respirasjon i avkast og i opplinet del av Ventemerd 2 (utenfor avkastet) sammenliknet (Figur 14). Vi ser at fisketettheten var høy i begge tilfeller.

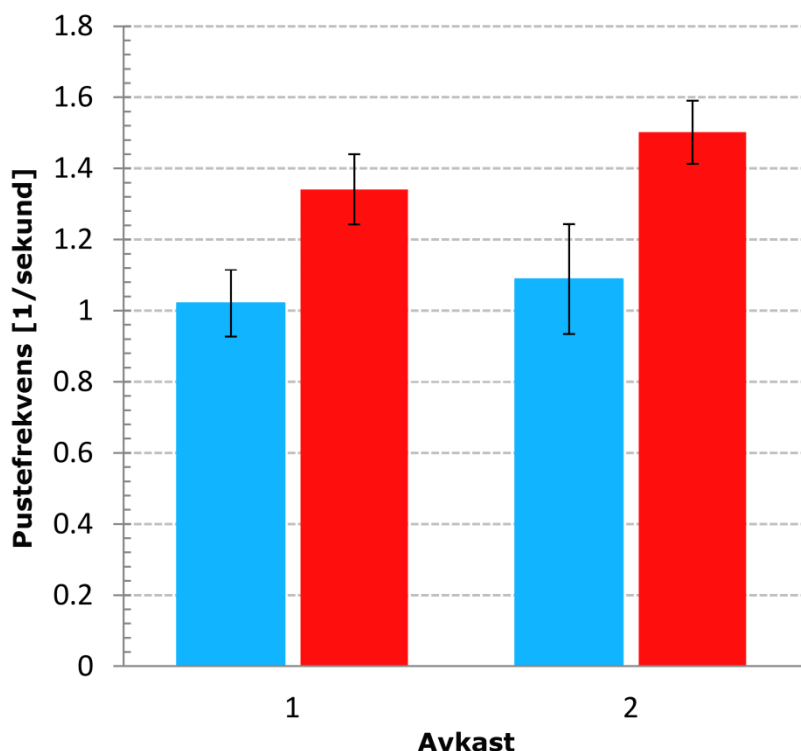
Pustefrekvensen ble kvantifisert ved å telle antall gjellelokkbevegelser per sekund. Figur 15 viser at pustefrekvensen var høyere hos fisk i avkast enn hos fisk i samme merd utenfor avkastet. Den gjennomsnittlige pustefrekvensen økte i andre og trenging i forhold til første trengingen, men med sikt på variasjonen i pustefrekvensen mellom individer kan dette være en tilfeldig effekt.



Figur 14 - Stillbilder fra film tatt opp av ROV. Sammenlikning av fisketetthet i merd utenfor avkastet (til venstre) og i avkast (til høyre). Vi ser at fisketettheten var høy i begge tilfellene.

Når fisk trenges øker fisketettheten, noe som vi kan anta etterhvert kan føre til lavt oksygenivå i vannet i det trengte volumet. Fisken vil i så fall øke pustefrekvensen for å kompensere for lavere oksygenkonsentrasjoner. En kan også tenke seg at dersom fisken står svært tett blir 'vanlige' svømmebevegelser ikke lenger mulige, noe som kan føre til økt stress, som igjen kan føre til økt oksygenbehov. Vi ser at pustefrekvensen hos fisk i merd utenfor avkast lå rundt 1,0 per sekund (60 per min), og at den var lik under begge trengoperasjonene. Under trenging, økte midlere pustefrekvens signifikant opp til omlag 1,3 per sekund (78 per min) i første avkast og videre til omlag 1,5 per sekund (90 per min) i andre avkast.

Basert på at fisken hadde god tilgang på oksygen (se ovenfor) og at svømmeaktiviteten var lav, er disse resultatene noe overraskende. Det synes rimelig å anta at økt pustefrekvens likevel kan ha noe økt tetthet å gjøre.

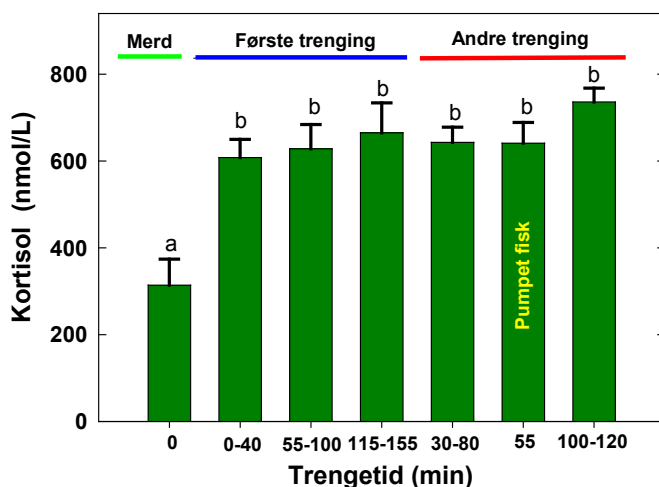


Figur 15 – Pustefrekvens (gjellelokkbevegelser per sekund) hos laks i to avkast (røde søyler) sammenliknet med laks i merd utenfor avkast (N=10, gjennomsnitt ± SD).

### 3.3 Endringer i blodkjemi

#### Kortisol

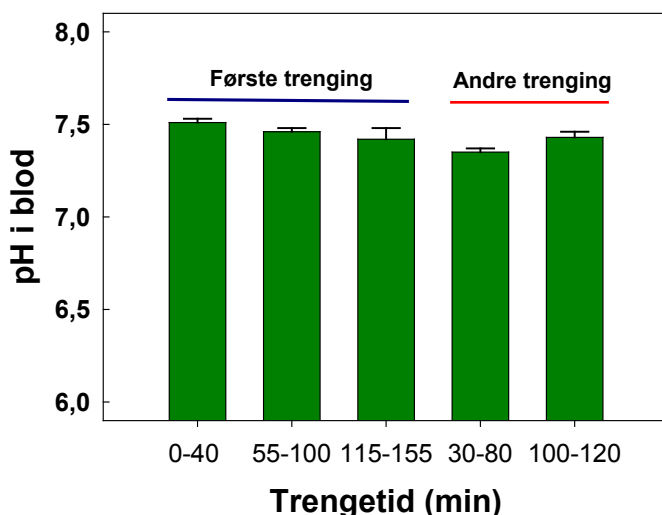
Kortisolnivåene i fisk tatt ut etter ulike tidspunkt i trengoperasjonene er vist i Figur 16. Basert på at kortisolnivået i ustresset laks ligger ned mot 0 nmol/L (Gamperl et al., 1994) og hvor hvilenivå har blitt angitt som  $25 \pm 25$  nmol/L (Einarsdottir & Nilsen, 1996) så kan vi konkludere med at all fisk var stresset. Vi ser at kortisolnivået i fisk tatt ut før trengingen startet lå rundt halvparten (~300 nmol/L) av nivåene i fisk som ble trengt i avkastene (~600-700 nmol/L). Videre merker vi oss for begge avkastene at det var ingen signifikante forskjeller i kortisolnivå med økende trengetid ( $P > 0,05$ ). Pumpet fisk hadde samme kortisolnivå som fisk som ble tatt ut fra andre avkast i samme periode (30 – 80 min). Dette skyldes trolig at responstiden for ytterligere kortisoløking fra et allerede høyt nivå tar lenger tid enn den korte pumpetiden (ca 2 min) før fisken ble avlivet for uttak av blodprøver. Det er rimelig å anta at fisken i merd (referansecfisken) fremdeles var stresset etter at det ble slaktet fisk fra samme merd 12 timer tidligere. Uttak av fisk for prøvetaking vil i seg selv medføre en økning i kortisolnivå. Imidlertid vil denne stresseffekten være liten (individuell håving og avliving innen ca 10 sek) sammenliknet med de høye nivåene av kortisol som ble målt i alle gruppene fisk her. Til sammenlikning kan nevnes at to nedtappinger av kar med vannstand 40 cm ned til 10 cm i løpet av 2 min førte til en kortisoløking hos laks opp til midlere nivåer på 366 og 534 nmol/L. Maksimalnivåene ble registrert 20 min etter hendelsen og det tok 24 timer før kortisolnivåene igjen var nede på kontrollnivå (Einarsdottir & Nilsen, 1996).



Figur 16 – Nivået av stresshormonet kortisol i laks under to trengingoperasjoner. Referansefisker som ble tatt fra merd før trenging (0 min) var trolig fremdeles stresset på grunn av at det ble slaktet fisk fra denne merden 12 timer tidligere. Middelerverdi  $\pm$  SEM ( $N = 6, 8, 9$  og  $10$ ). Forskjellig bokstav, 'a' eller 'b', indikerer ulikt stressnivå ( $P < 0,05$ ).

#### Blod-pH

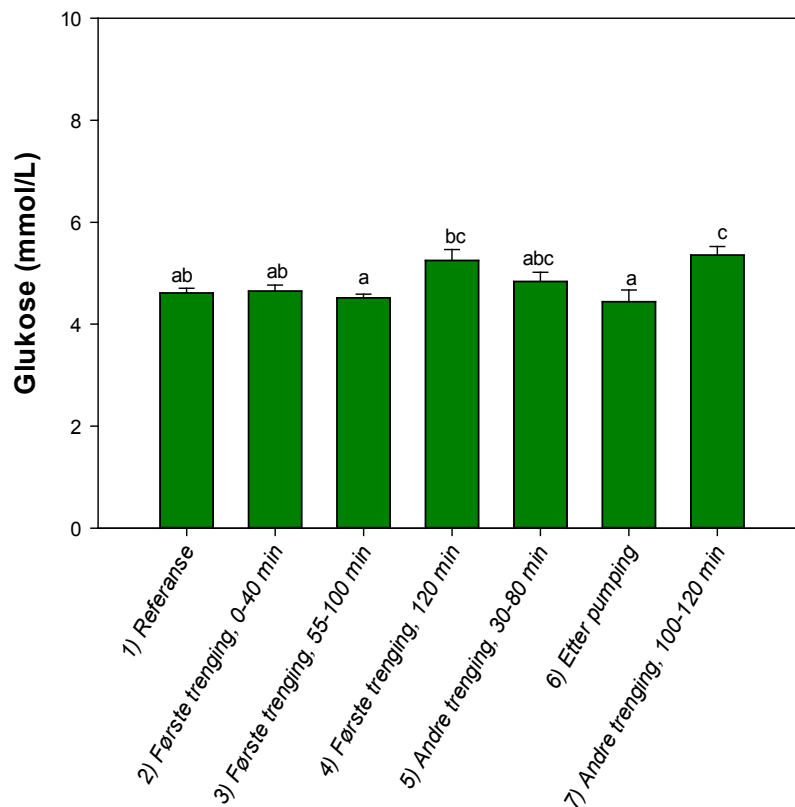
Figur 17 viser pH i blod målt med pH-meter umiddelbart etter avlivning. Middelerverdiene varierte mellom pH 7,35 og 7,51 og det var ingen signifikant effekt av trengingstid innen hver enkelt trengingoperasjon. Til sammenlikning kan nevnes at når utvilt laks stresses til fisken blir utmattet så reduseres surheten i blod fra pH 7,848 til pH 7,316 (Tufts et al., 1991). Det ble ikke målt blod-pH i referansefisk og i pumpet fisk.



Figur 17 - Blod-pH i laks under trenging i to avkast i Ventemerd 2. Middelerverdi  $\pm$  SEM.  $N = 3$  (0-40 min), 6 (115-155 min), 9 (100-120 min) og 10 (55-100 og 30-80 min). Det var ingen effekt av trengingstid innen hver enkelt trengingoperasjon ( $P > 0,05$ ).

### Glukose i blod

Glukosemengden i blod målt ved bruk av epoc<sup>®</sup> er vist i Figur 18. Som vi ser, lå alle middelveidene for de ulike forsøksgruppene i området 4 - 5 mmol/L. Selv om enkelte grupper var for forskjellige fra hverandre ( $P < 0,05$ ), var forskjellene små. Hovedkonklusjonene er likevel at det i hovedsak ikke ble registrert endringer i glukosekonsentrasjon ved økt trengetid og at nivået var det samme som i merden før trengingen startet. Hvilenivå av glukose i regnbueørret har blitt rapportert som 3,79 mmol/L som øker til 4,35 like etter stressing til utmattelse, og videre til 4,79 mmol/L målt 30 min senere (Milligan & Wood 1986).

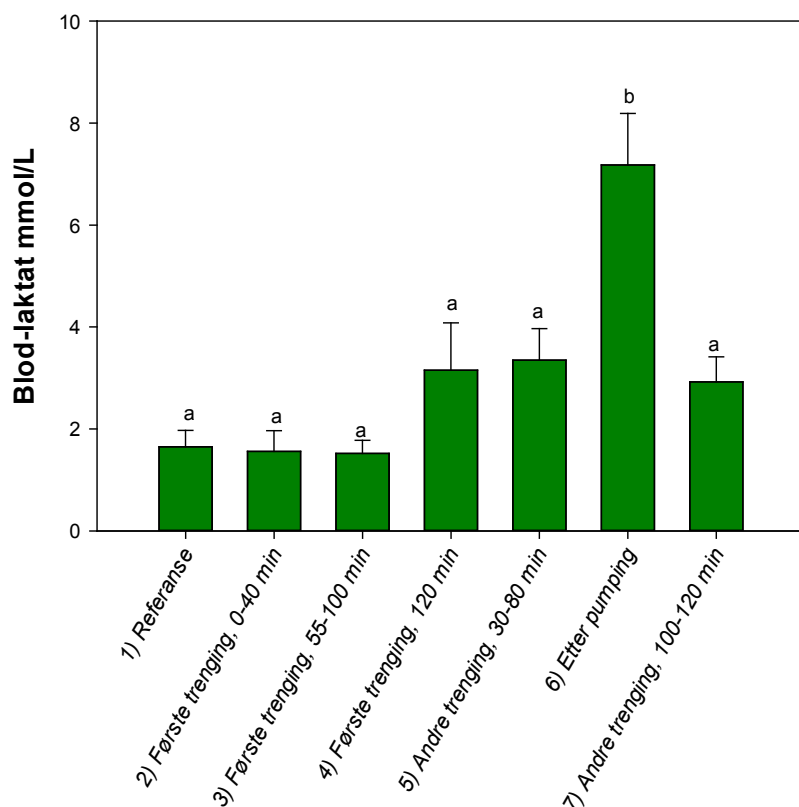


Figur 18 - Glukosekonsentrasjonen i blod hos laks som hadde stått i ro i ventemerid i omlag 12 timer etter at uttak til slakting hadde blitt avsluttet (referanse), samt under trening i første og andre avkast. I tillegg er nivået for glukose etter pumping etter 55 min trening i andre avkast vist. Middelveidier  $\pm$  SEM. N (søyle 1-7) = 8, 10, 6, 10, 10 og 9. Forskjellig bokstav (a, b eller c) over søylene viser signifikant forskjell ( $P < 0,05$ ).

### Blodlaktat

Laktat (melkesyre) i blod (målt ved bruk av 'Lactate Scout test strip method') er en stressindikator med kort responstid som en følge av anaerob muskelaktivitet. Hvit muskel i hviletilstand har et laktatnivå som er lavere et målemetodens deteksjonsgrense ( $< 0,5$  mmol/L). Vi ser at de midlere laktatkonsentrasjonene for referansefisk (merd, 0 min trening) og all fisk som var utsatt for trening (inkludert siste fisk pumpet ut fra avkast) lå i området mellom  $\sim 1,5$  og 3,0 mmol/L (Figur 19). Dette er en beskjeden stressrespons som viser at fisken kun i liten grad hadde hatt fluktrepons eller anaerob metabolisme. Dette stemmer godt overens

med observasjonene av fiskens atferd (rolig, aerobt svømmemønster) og at oksygenmetningen var konstant høy uavhengig av fisketetthet. Gruppene var ikke forskjellige ( $P > 0,05$ ), men det var en tendens til økning i laktatnivå utover dagen. Den pumpede fisken, med et midlere laktatnivå på  $\sim 7$  mmol/L var den eneste gruppen fisk som hadde signifikant forskjellig laktatnivå. Dette viser at selve pumpingen stresset fisken (målbart på grunn av kort responstid for laktat). Milligan & Wood (1986) måle hvilenivået av laktat i regnbueørret til 0.58 mmol/L mens etter at fisken var stresset til utmattelse var laktatkonsentrasjonen 8.82 mmol/L. Tretti minutter senere hadde laktatnivået steget til 10,95 mmol/L. I stresset laks har en målt laktatnivåer i området 5-9 mmol/L (Thomas et al., 1999).



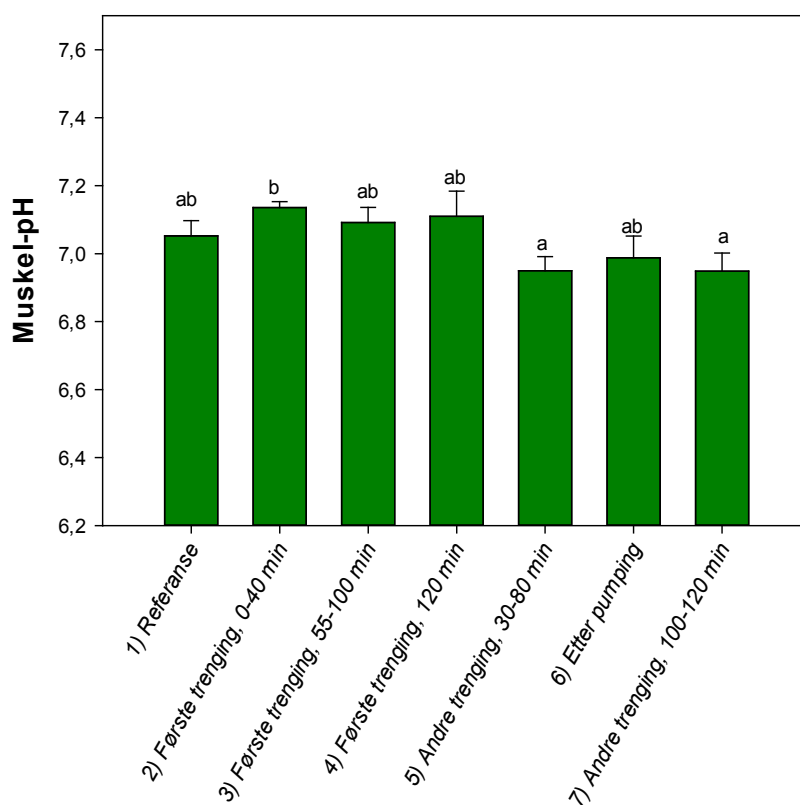
Figur 19 - Laktat i blod hos laks under trenging i to avkast i ventemerd. Referansefisk er fisk i merd før avkastet ble satt. Pumpet fisk ble tatt ut på slakteri etter 55 min trenging i forbindelse med andre avkast. Middelerverdi  $\pm$  SEM, N (søyle 1-7) = 8, 10, 10, 6, 10, 10 og 9. Forskjellig bokstav, 'a' eller 'b', angir signifikante forskjeller mellom gruppene.

### 3.4 Stress definert som muskelarbeid og tid til inntreden i rigor mortis

#### Muskel-pH

Grad av anaerobt muskelarbeid i hvit muskel (fluktrespons) kan måles ved å stikke en pH-elektrode direkte inn i muskelen. I uthvilt laks ligger initiell pH i området  $\text{pH } 7,5 \pm 0,1$  mens den for fullstendig utmattet laksemuskel ligger i området  $\text{pH } 6,7 \pm 0,1$  (Misimi et al., 2008). Vi ser fra Figur 20 at midlere initielt pH-

nivå i all fisk varierte mellom pH 7,1 og 6,9, noe som viser at fisken var stresset men ikke utmattet. Sammenliknet med referansecfisken førte ikke trenging til ytterligere reduksjon i pH. Resultatene tyder på at fisken på ett eller annet tidspunkt i løpet av natten, eventuelt i forbindelse med slakting 12 timer tidligere, hadde hatt betydelig muskelaktivitet. Siden laktatnivået økte betydelig etter pumping (Figur 19), er det overraskende og uvanlig at ikke pH ble redusert tilsvarende. Selv om forskjellen var liten, hadde fisk i første trenging (0-40 min) signifikant høyere pH enn i fisk i begge gruppene under andre trenging.



Figur 20 - Muskel-pH i laks under to trengingsoperasjoner sammenliknet med laks i merd før trengingsoperasjonen startet (referanse). Pumpet fisk ble tatt ut fra slakteri etter først å ha blitt trengt i andre avkast i 55 min. Middelverdier  $\pm$  SEM. N (søyle 1-7) = 8, 10, 10, 6, 10, 10 og 9. Forskjellig bokstav, 'a' eller 'b', angir signifikante forskjeller mellom gruppene.

#### Pre-rigor tid

Det er en direkte sammenheng mellom nivået av initiell pH i hvit muskel og tid til dødsstivheten inntreffer. Hos utvilt ('urørt') laks starter rigor mortis etter drøyt 24 timer (lagring på is) ved initiell pH 7,6, mens for utmattet laks med initiell pH 6,7, så starter rigor etter omlag 2 timer post mortem (Misimi et al., 2008). I denne studien varierte intiell pH mellom pH 7,1 og 6,9 (Figur 20) som medførte at rigor mortis startet et sted mellom de nevnte to ytterpunktene. På individnivå varierte pre-rigortiden mellom ~ 5,5 timer og << 24 timer (Tabell 2). Det var til dels store individforskjeller innen hver gruppe. Det er vanskelig å se en tydelig tendens ved å sammenlikne de ulike gruppene. Imidlertid er dette i tråd med hva en kunne forvente ut fra liten

variasjon i de midlere initielle pH-verdiene. Ved å ta hensyn til de fleste fiskene kan man grovt sett si at **pre-rigortiden** for fisk slaktet fra Ventemerdd 2 denne dagen lå **mellom 5 og 13 timer**.

Tabell 2 - Pre-rigortid for laks trengt i to avkast i ventemerdd sammenliknet med referansefisk (tatt ut før trengoperasjonen startet) i samme merd. Pumpet fisk ble overført til slakteri under andre trenging. Fisken ble lagret på is under evaluering av rigor mortis.

	Gruppe	N	Trengintervall (min)	Pre-rigortid - Intervall* (timer)
1	Referanse	8	-	9 - <14
2	Første trenging	10	0 - 40	13 - <<24
3	Første trenging	10	55 - 100	<7,5 - <12
4	Første trenging	6	115 - 155	>5 - <11
5	Andre trenging	10	30 - 80	<5,5 - 13,5
6	Etter pumping	10	55	>5 - <10
	Andre trenging	9	100 - 120	<9 - <<21,5

\*Tallene angir første og siste fisk i rigor innen hver gruppe; < = fisk i svak rigor, dvs rigor hadde startet kort tid (anslagsvis 1-2 timer) før evalueringen ble foretatt; << = fisk i sterk rigor, dvs rigor hadde startet flere timer før evalueringene ble gjort.

### 3.5 Fiskevelferd

Fiskevelferd er ikke nødvendigvis synonymt med stress. Selv om fisketettheten var konstant høy ved begge trengoperasjonene viste fisken rolig atferd og god vannkvalitet ble opprettholdt. Fisken ble heller ikke eksponert mot luft. Effektiv industriell produksjon krever dessuten at fisken raskt må overføres til slakteri. Spørsmålet blir da om det kan regnes som uheldig å utsette fisken før høy tetthet i relativt kort tid før avliving?

EFSA (2009a,b) vurderte risikoen for dårlig fiskevelferd under trenging i ventemerdd som relativt lav sammenliknet med avliving og bløgging. Ut i fra denne undersøkelsen hos SalMar synes det som det ikke er rett fram å definere entydige og hensiktsmessige kriterier for god fiskevelferd, med unntak av det å opprettholde god vannkvalitet og at fisken ikke må eksponeres mot luft. Objektive kriterier for evaluering av velferd i oppdrettsmerd er derimot utviklet gjennom modellene SWIM 1.0 (Stien et al., 2013) og SWIM 2.0 (Pettersen et al., 2013) men disse modellene passer ikke for å evaluere situasjonen i ventemerdd.

## 4 Oppsummering

Totalt sett kan trengoperasjonene hos SalMar denne dagen betraktes som gode fordi fisken hadde til enhver tid rikelig tilgang på oksygen, ble ikke eksponert mot luft, ble ikke ytterligere stresset i avkastene, og bedriften har dessuten konstant videoovervåkning av fiskens atferd både over og under vann. Selv om fisketettheten var høy, hadde fisken normal, rolig svømmeaktivitet. Det ble ikke observert perioder hvor fisken hadde tydelig fluktrespons.

Med hensyn til fiskens stressnivå denne dagen må en imidlertid ta visse reservasjoner i forhold til resultat og konklusjoner. Dersom fisken i ventemerden i liten grad hadde vært stresset før trengeprosessene startet, kan det tenkes at vi ville ha observert en økning i stress med økende trengetid. I og med at fisken i virkeligheten var stresset til et visst nivå før trenging, kan det tenkes at effekten av videre håndtering spilte mindre rolle. Samtidig må det presiseres at potensielt kunne fisken ha blitt stresset i avkastene inntil den var utmattet. Det skjedde ikke. Dette må oppfattes positivt og det tyder på at bedriften har gode rutiner for trenging.

De fleste fiskene hadde en pre-rigortid på 5-13 timer, noe som i prinsippet muliggjør filetering og fjerning av pinnebein før rigor mortis starter. Dersom bedriften av ulike årsaker ønsker lenger pre-rigortid enn dette må en sørge for å redusere fiskens stressnivå (summen av stress i ventemerde og pumping).

En ting en naturligvis må ta i betraktning er at vi her betrakter industriell produksjon i stor skala. Vanlig drift av ventemerde medfører at en av ulike årsaker under prosessering må skifte mellom ulike ventemerder (selv om noe annet er planlagt). Dette innebærer at fiskens stressnivå i merden vil variere for eksempel som en følge av når siste uttak ble foretatt (som i denne studien). Som resultatene fra denne studien indikerer, kan det derfor (ofte?) oppstå situasjoner hvor fiskens tilstand før trenging kan overskygge effekt av selve trengingen, spesielt i tilfeller hvor bedriften har gode rutiner for trenging. Et spørsmål industrien bør vurdere er: *'Hvilket stressnivå og hvilken pre-rigortid regner vi som akseptable gitt at vi skal opprettholde dages produksjonshastighet?'*



## 5 Konklusjoner

I havbruksnæringen benyttes ulike typer ventemerder, prosedyrene og utstyr for overvåking av trengeprosessen varierer fra anlegg til anlegg og ikke minst er operasjonen personavhengig med hensyn graden av oppfølging og overvåking underveis gjennom hele trengeprosessen. Vi vil derfor presisere at resultatene gjelder for SalMar sin ventemerd under de rådende betingelsene den aktuelle dagen.

- Basert på kriteriet at det ikke skjedde endringer med fisken gjennom to trengeoperasjoner (avkast) så kan prosessen betegnes som god. Det må samtidig presiseres at fisken var stresset, men ikke utmattet, før trengeprosessen tok til. Dersom fisken hadde vært lite stresset i utgangspunktet kan konklusjonene i forbindelse med stress i avkast ha blitt noe annerledes.
- God vannutskifting og høy oksygenmetning ble observert gjennom hele trengeprosessene (blant annet målt i områder med høyest fisketetthet)
- Fisken i avkastet ble ikke eksponert mot luft
- Laksen var stresset (men ikke utmattet) før fisken ble trengt i to avkast. Mest trolig skyldes dette at det hadde blitt slaktet fisk fra samme merd 12 timer tidligere.
- Fisketettheten var høy og virket relativt uniform gjennom begge trengeoperasjonene
- I forhold til fisk i samme merd før avkastene ble satt, ble ikke fisken ytterligere stresset i løpet av de to trengeoperasjonene vi studerte (som inkluderte siste fisk ut fra ventemerd)
- Til tross for høy tetthet viste videoopptak fra undervannskameraer at fisken svømte rolig rundt i avkastet. Denne atferden forklarer hvorfor vi ut fra våre stressmålinger kunne konkludere med at fiskens stressnivå ikke endret seg signifikant gjennom trengeoperasjonene.
- Det var store individuelle forskjeller med hensyn til når rigor mortis startet i de ulike gruppene fisk. I tråd med resultatene fra stressmålingene var det ingen klar tendens med hensyn til lengden av pre-rigortid og trengetid. I de fleste fiskene startet rigor mortis mellom 5 og 13 timer post mortem ved lagring på is.
- Slik trengeoperasjonen ble utført er det uklart om fiskens velferd eventuelt kunne ha blitt forbedret, eller om det er behov for det (gitt at dagens produksjonshastighet skal opprettholdes).
- Dersom en ser bort fra åpenbare velferdkriterier knyttet til vannkvalitet, og at fisken ikke må eksponeres mot luft, er det uklart om det er andre kriterier en bør vurdere spesifikt for ventemerd.

## 6 Referanser

EFSA 2009a. Scientific opinion of the panel on animal health and welfare on a request from the European Commission on species-specific welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed Atlantic salmon. *The EFSA Journal* 2012: 1-77.

EFSA 2009b. Species-specific welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed fish: rainbow trout. Scientific opinion of the panel on animal health and welfare. *The EFSA Journal* 1013: 1-55.

Einarsdottir, I.E. & Nilssen, K.J. 1996. Stress responses of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) elicited by water level reduction in rearing tanks. *Fish Physiology and Biochemistry* 15:395-400.

Erikson et al., 2015. Dagens ventemerder og trengepraksis – state of the art. SINTEF Fiskeri og havbruk prosjektnotat 19s.

Gamperl, A.K., Vijayan, M.M. & Boutilier, R.G. 1994. Experimental control of stress hormone levels in fishes: techniques and applications. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 4: 215-255.

Iversen, M., Finstad, B. & Nilssen, K.J. 1998. Recovery from loading and transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts. *Aquaculture* 168, 387-394.

Milligan, L. & Wood, C.M. 1986. Tissue intracellular acid-base status and the fate of lactate after exhaustive exercise in rainbow trout. *Journal of experimental Biology* 123: 123-144.

Misimi, E., Erikson, U., Digre, H., Skavhaug, A. & Mathiassen, R. 2008. Computer vision-based evaluation pre- and post-rigor changes in size and shape of Atlantic cod (*Gadus morhua*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets during rigor mortis and ice storage: Effects of perimortem handling stress. *Journal of Food Science* 72: S030-S035.

Pettersen, J.M., Bracke, M.B.M, Midtlyng, P.J., Folkedal, O., Stien, L.H., Steffenak, H., & Kristiansen, T.S. 2013. Salmon welfare index model 2.0: an extended model for overall welfare assessment of caged Atlantic salmon, based on a review of selected welfare indicators and intended for fish health professionals *Reviews in Aquaculture* 5: 1-18.

Stien, L.H., Bracke, M.B.M, Folkedal, O., Nilsson, J., Oppedal, F., Torgersen, T., Kittilsen, S., Midtlyng, P.J., Vindas, M.A., Øverli, Ø. & Kristiansen, T.S. 2013. Salmon Welfare Index Model (SWIM 1.0): a semantic model for overall welfare assessment of caged Atlantic salmon: review of the selected welfare indicators and model presentation. *Reviews in Aquaculture* 5: 33-57.

Thomas, P.M., Pankhurst, N.W. & Bremner, H.A. 1999. The effect of stress and exercise on post-mortem biochemistry of Atlantic salmon and rainbow trout. *Journal of Fish Biology* 54: 1177-1196.

Tufts, B.L., Tang, Y., Tufts, K., & Boutilier, R.G. 1991. Exhaustive exercise in 'wild' Atlantic salmon (*Salmo salar*): acid-base regulation and blood gas transport. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54: 868-874.



Teknologi for et bedre samfunn

[www.sintef.no](http://www.sintef.no)