

 AquaGen

cermaq



 HAVFORSKNINGSINSTITUTTET
INSTITUTE OF MARINE RESEARCH

 **M N** Midt-Norsk
H Havbruk AS



NOVA
SEA
Seafood from Norway

14.01.2016

Milepælsrapport

*STORSKALA PRODUKSJON AV TRIPLOID LAKS UNDER
KOMMERSIELLE FORHOLD*

For AquaGen AS, Sissel Kjølglum, Maren
Mommens, Nina Santi og Håvard
Hultgren

Milepælsrapport

STORSKALA PRODUKSJON AV TRIPLOID LAKS UNDER KOMMERSIELLE FORHOLD

Bakgrunn

Rømming av oppdrettslaks er en uønsket hendelse som har negative konsekvenser for oppdretterens økonomi og kan føre til genetiske påvirkninger på ville bestander. Produksjon av steril laks er fra flere hold nevnt som et aktuelt tiltak i den sammenheng – enten for næringen som helhet eller avgrenset til regioner som er særlig sårbare med tanke på vill-laksen. Den eneste kommersielt tilgjengelige metoden for produksjon av steril laks i dag er å triploidisere den nybefruktede rogn, noe som innebærer at fisken får tre kromosomsett istedenfor to (diploid). Det foreligger et stort antall forskningspublikasjoner på triploid laks, og ved flere av studiene er det påvist at den triploide laksen har større innslag av ulike skjellettdformasjoner. Dødelighet og tilvekst er for diploid og triploid laks på samme nivå, bortsett fra at den triploide laksen kan ha større dødelighet før startføring og at den triploide laksen vokser bedre i ferskvannsfasen, men noe dårligere fra ca. tre kg til slaktestørrelse. Nyere forskning gir gode holdepunkt for at den økede forekomsten av deformitet kan elimineres ved at fôret tilsettes tilstrekkelig mengde tilgjengelig fosfor, særlig i ferskvannsfasen. Den forskningsbaserte kunnskapen tilsier at det nå er forsvarlig å gjennomføre kontrollert uttesting av storskala produksjon av triploid laks under kommersielle forhold. Men produksjonen av slik fisk er så spesiell at den må uttestes og læres gjennom hele produksjonssyklus og under ulike drifts- og miljøforhold. Det er derfor tildelt FoU-konsesjoner for uttesting av triploid laks til fem oppdrettsselskap: Eide Fjordbruk AS, Midt-Norsk Havbruk AS, Mainstream Norway AS, Nova Sea AS og Nordlaks Oppdrett AS. Det tas sikte på tre årsuttsett av høstsmolt og vårsolt, med en total prosjektperiode på fem år. Havforskningsinstituttet deltar som en forskningspart i prosjektet.

Det siste partiet med rogn i dette prosjektet er produsert, den sist fiskegruppen er smolt våren 2016 og sjøsettes innen juni. Prosjektdeltakerne har i dette prosjektet høstet erfaringer med storskala triploid-produksjon og det er fortsatt utfordringer og problemstillinger som disse aktørene ønsker å undersøke videre. Derfor er det søkt om en forlengelse av FoU-konsesjonen for fire av de 5 aktørene som er med i dette prosjektet.

Prosjektets hovedmål:

Sammenligne produksjon av diploid og triploid laks under storskala, kommersielle oppdrettsforhold på Vestlandet, i Midt-Norge og Nord-Norge. Produksjonsforholdene skal være mest mulig lik den ordinære produksjonen i anleggene.

Delmål:

1. Sammenligne veksthastighet, overlevelse og slaktekvalitet for triploid og diploid laks under ulike oppdrettsbetingelser og i ulike regioner langs norskekysten.
2. Finne ut om triploid laks påvirkes av ulike temperatur-/oksygenforhold under vanlige oppdrettsforhold.
3. Finne ut om optimalt fôr med tanke på innhold av histidin og tilgjengelig fosfor har forebyggende effekt på forekomst av katarakt og skjellettdformiteter hos triploid laks.

Forsøksplan

Det er produsert fisk etter følgende plan:

| Rognproduksjon | Overføring til sjø | Utslaktning |
|------------------|--------------------|-------------|
| Høst 2012 | SO+ 2013 | 6-9/2015 |
| | S1+ 2014 | 9-12/2015 |
| Høst 2013 | SO+ 2014 | 6-9/2016 |
| | S1+ 2015 | 9-12/2016 |
| Høst 2014 | SO+ 2015 | 6-9/2017 |
| | S1+ 2016 | 9-12/2017 |

Det var i utgangspunktet planlagt å produsere ca. 280.000 diploide og triploide egg for hvert utsett av 200.000 SO+ og S1+ i hvert deltakende anlegg.

Milepæl 1: Rognproduksjon og metodikk for triploid-testing

Før prosjektstart var det etablert gode protokoller for småskala produksjon av triploid rogn hos AquaGen. Disse var basert på at rogn utsettes for hydrostatisk trykk på 655 bar 300 minuttgrader etter befruktning med en varighet på 50 minuttgrader i et franskprodusert trykk-kammer med en kapasitet på 6-7 liter rogn. Bruk av denne typen trykk-kammer er forbundet med en del håndtering av rogn som må helles inn og ut av kammeret, og utstyret er ikke egnet for industriell produksjon av triploid laks. Selve triploidiseringsprosessen krever stor nøyaktighet i oppfølginga av tidspunkter for de enkelte delprosesser og krever en betydelig større arbeidsinnsats, sammenlignet med vanlig rognproduksjon. Aqua Gen har derfor utviklet en robotisert linje for rognbehandling der automatisert, kontinuerlig trykkbehandling i horisontalt plasserte kammer inngår. Ved bruk av dette utstyret kan triploid rogn produsere mer effektivt, samt gi rogn mer skånsom behandling og bedre styring av tid/temperatur. Utstyret ble testet i forsøksproduksjon tidlig i 2013 og ble tatt i bruk høsten 2013.

Dette medførte at all rognproduksjon det første året (2012) ble gjort med det gamle kammeret, og for disse er alle batcher bekreftet 100% triploide etter blodanalyser utført av Havforskningsinstituttet. Imidlertid ble det påvist ufullstendig triploidisering i rognpartier fra sesongene 2013 og 2014, som ble produsert med den nye robotiserte linjen og det nye trykk-kammeret. Dette avviket ble oppdaget i desember 2014, og det fulle omfanget av denne produksjonsfeilen er under kartlegging.

AquaGen har i 2015 arbeidet intensivt med å finne feilen, og det har blitt iverksatt flere tiltak for å sikre riktig verdi av faktorer som på virker triploidiseringsprosessen. Det har blitt installert logging som overvåker trykket i kammeret, og en alarm utløses ved trykkfall eller hvis trykket ikke økes i kammeret. Loggen kan også i ettertid sjekkes hvis det oppdages ufullstendig triploidisering i en rognbatch. Det har også blitt iverksatt tiltak for å holde en jevn og riktig temperatur på rogn og omgivelsene under styrking og triploidisering. Samtidig mangler det en rask og nøyaktig metode for triploidvalidering. Per i dag tar det 55-60 dager før resultatet av triploidisering kan bekreftes på øyerogn. Ikke alle av de tiltakene som har blitt iverksatt er ferdig evaluert eller verifisert, men de resultatene vi har så langt gir indikasjonene på at AquaGen har optimalisert og fått bedre kontroll på triploidiseringen.

Samtidig med dette jobbes det fortsatt med å teste ut ulike metoder for triploidtesting. Den beste og sikreste metoden for triploidtesting på dette tidspunktet gjøres ved hjelp av blodprøver. Ulempen i metoden er at man må vente til yngelen har vokst seg såpass stor at man kan ta blodprøver. Derfor har AquaGen tidligere gjennomført triploidtesting på starfôringsklar yngel, ved hjelp av flow cytometer. AquaGen har også tatt i bruk en metode for triploidvalidering ved øyerognstadiet for å kunne validere triploidstatus før rogn sendes ut til kunde. Denne metoden er forholdsvis ny og det jobbes med å

redusere feilmålinger og sikre resultatene. Samtidig jobbes det også med å utvikle andre tester, blant annet genetiske markører kan brukes til dette formålet. På grunn av de erfaringene med problemer med triploidiseringen, vil andel triploid undersøkes i alle batchene med triploid rogn som er produsert i dette prosjektet.

Milepæl 2. Slakting av alle triploide og diploide grupper fra rognproduksjon 2012 er gjennomført

Målet for prosjektet var å sammenligne produksjon av diploid og triploid laks under storskala, kommersielle oppdrettsforhold på Vestlandet, i Midt-Norge og Nord-Norge. Produksjonsforholdene skulle være mest mulig lik den ordinære produksjonen i anleggene. Viktigste målsetting var å etablere «best practice» i produksjonen av triploid laks og registrere produksjonsparametere og prestasjon sammenlignet med de diploide kontrollgruppene.

Det har vist seg å være en utfordring å finne den riktige balansen mellom de forskningsmessige ambisjonene og hva som er realistisk å få gjennomført under storskala, kommersielle driftsforhold. Det er gjort en del erfaringer i så måte som en ønsker å ta med seg videre i en videreføring av prosjektet.

I perioden fra desember 2014 til november 2015 har alle fisk fra rogn produsert høsten 2012 blitt slaktet, og data har blitt samlet inn for å sammenlikne diploide og triploide grupper i tilnærmet samme miljø gjennom hele produksjon fra rogninnlegg til slakting hos alle aktørene i prosjektet. Resultatene oppsummeres i de følgende avsnittene:

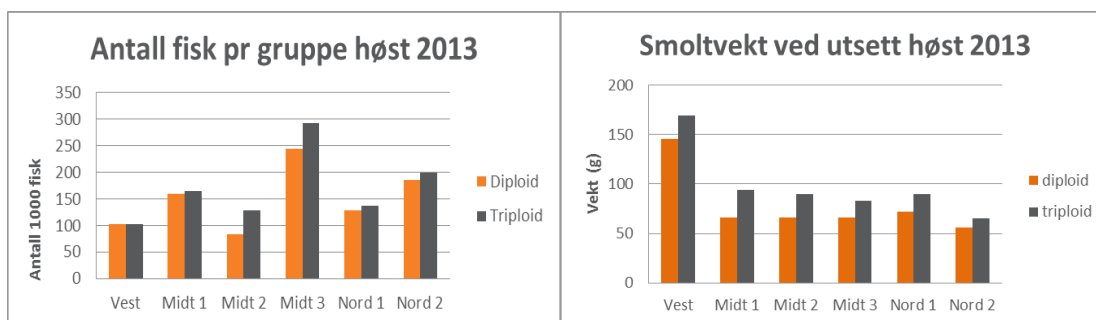
Ferskvannsfasen

Produksjonen av smolt har vært gjennomført på 4 ulike settefiskanlegg. Det har vært vist tidligere at triploid laks har hatt større dødelighet før starforing enn diploidgrupper, og vi har også undersøkt dette i fiskegruppene i prosjektet. Andel startfôret yngel i forhold til innlagt rogn er vist i tabellen nedenfor. Tallene fra dette prosjektet viser gjennomsnittlig 90% overlevelse for den triploide fisken fra øyeroغن til startfôring, mens for de diploide kontrollgruppene er det gjennomsnittlig 96% overlevelse.

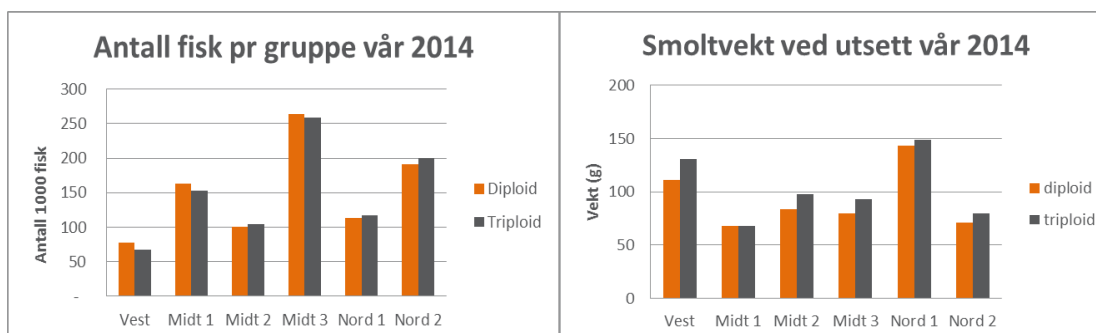
| Andel startfôret i forhold til innlagt rogn | | | |
|---|------------|----------|---------|
| Anlegg | Rognsesong | Triploid | Diploid |
| Vest | 2012 | 98 % | 97 % |
| | 2013 | 81 % | 97 % |
| | 2014 | | |
| Midt | 2012 | 88 % | 92 % |
| | 2013 | 89 % | 93 % |
| | 2014 | | |
| Nord 1 | 2012 | | |
| | 2013 | | |
| | 2014 | 90 % | 98 % |
| Nord 2 | 2012 | 96 % | 96 % |
| | 2013 | 83 % | 96 % |
| | 2014 | 86 % | 98 % |

Ellers bekrefter resultatene fra settefiskfasen fra den første årgangen i stor grad tidligere funn ved at den triploide fisken hadde høyere utsettsvekt enn den diploide kontrollgruppen. Forskjellene varierte fra 15% til 42% for høstutsett 2013 og noe mindre for vårutsett 2014, men gjennomgående er det bedre tilvekst i ferskvannsfasen for triploide laks.

Oppsummering for 0-åringsutsett høsten 2013:



Oppsummering for 1-åringsutsett våren 2014:

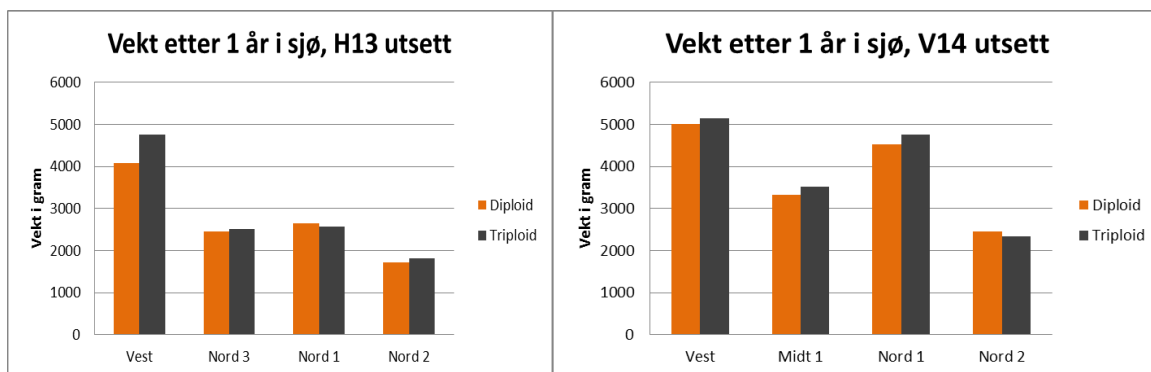


Sjøfasen

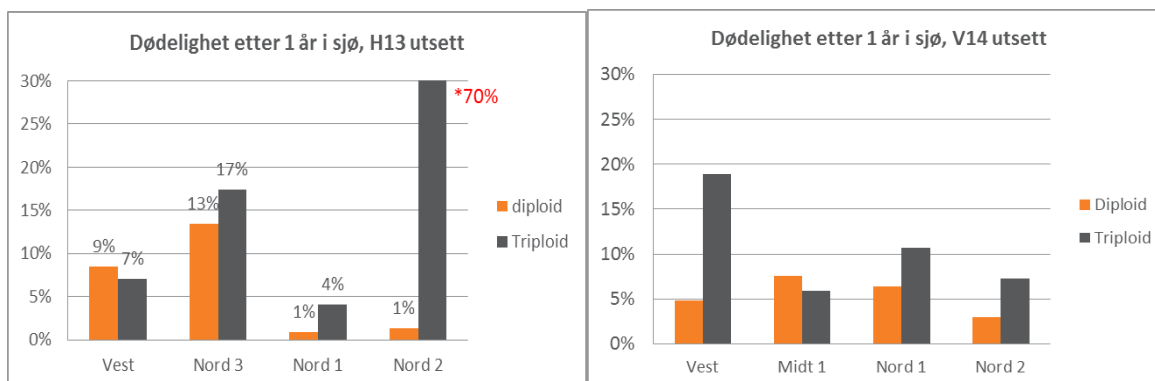
I sjøfasen av produksjonen har de triploide og diploide fiskegruppene stått i separate men nærliggende merder.

Vekstutvikling og dødelighet er registrert gjennom de ordinære produksjonsovervåkingssystemene til det enkelte anlegget. Utviklingen er illustrert gjennom grafer nedenfor. Det generelle inntrykket er at den triploide laksen beholder forspranget på den diploide ut det første året i sjø, eller viser tilnærmet lik tilvekst på dette tidspunktet. I ett tilfelle er den triploide laksen 17% større enn den diploide etter ett år i sjøen. Dett er verdt å merke seg at disse resultatene ble oppnådd på Vestlandet i en periode som inkluderte en eksepsjonelt varm sommer. Tidligere er det funnet at den triploide fisken raskere vil reagere med appetittsvikt og redusert tilvekst ved høye temperaturer. Dette kunne ikke bekreftes i denne studien hvor det ikke kunne registreres noen negative effekter av høye sjøtemperaturer (19°C) hos den triploide fisken.

Ikke i noen tilfeller ligger den triploide fisken markert etter den diploide etter et års produksjon i sjø. Dette viser at den triploide fiskens tilvekst ikke vil være til hinder for en effektiv produksjon av steril laks. Det understrekes at tilvekst etter ett år i sjøer basert på estimer og at mer korrekte tall reflekteres fra slaktedata.



Når det gjelder dødelighet er resultatene mer sprikende og oftere i disfavør av den triploide laksen. Imidlertid er det vanskelig å trekke noen konklusjoner, da mye av dødeligheten er knyttet til enkeltepisoder som påvirker resultatene uforholdsmessig mye og som kan være resultat av tilfeldigheter heller enn ploiditeten til fisken. Dette gjelder spesielt høstutsett Nord 2 i 2013 og vårutsett Vest i 2014. For høstutsett Nord 2 økte dødeligheten i den triploide fisken sterkt i perioden etter sjøutsett og endte med en akkumulert dødelighet på 71,5 % for den triploide gruppen, mot kun 2,3 % for den tilsvarende diploide gruppen. Årsaken til denne differansen i dødeligheten er ikke kjent, eneste forskjellen i produksjonen er ploidistatus og at fisken ble stående en tid på sjøvann/brakkvann i smoltanlegget før utsett. På smoltanlegget ble det imidlertid ikke registrert noen indikasjoner på alvorlige problemer med denne gruppen. For V14 utsett til Vest ble den triploide fisken i mye større grad rammet av en storm da den var plassert ytterst i anlegget for å sikre god oksygentilførsel. Det overordnede inntrykket er imidlertid at det er fullt mulig å produsere triploid laks med svinntall som ligger langt under gjennomsnittet i næringen.



Fôring og deformiteter

Etter planen skulle de deltakende oppdrettsselskap inngå avtale med sine respektive fôrleverandører om leveranser av fôr med dokumenterbart tilstrekkelig innhold av tilgjengelig fosfor og histidin, for å minimere innslaget av hhv. skjellettdeformitet og katarakt, jf. forskningsresultater ved Havforskningsinstituttet og i SALMOTRIP-prosjektet. Dette viste seg å være mer utfordrende enn ventet å gjennomføre i praksis. En problemstilling var at kun ett av fôrselskapene (Biomar) hadde en ferdig utviklet fôrserie tilpasset triploid fisk ved oppstarten av forsøkene. Underveis i prosjektperioden har også EWOS kommet på markedet med fôr tilpasset triploid fisk. Dette innebærer imidlertid at enkelte fiskegrupper ikke har fått, eller kun delvis har fått spesialtilpassede dietter.

Den første generasjonen i forsøket er undersøkt med røntgen for å se etter innslaget av skjellettdeformiteter mot slutten av settefiskfasen. Det ble tatt røntgen av 50 fisk per ploidi per lokalitet (totalt 500 fisk).

Tabell 1. Innslag av fisk med radiologisk detekterbare virveldeformasjoner ved ulike anlegg.

| | Diploid | | | Triploid | | |
|---------------|---------------|-----------|----------|---------------|-----------|----------|
| | Antall deform | Antall ok | % deform | Antall deform | Antall ok | % deform |
| Vest 1 | 0 | 50 | 0.0 % | 6 | 44 | 12.0 % |
| Nord 2 | 2 | 48 | 4.0 % | 20 | 32 | 38.5 % |
| Nord 1 | 2 | 49 | 3.9 % | 15 | 34 | 30.6 % |
| Vest 2 | 2 | 48 | 4.0 % | 6 | 54 | 10.0 % |
| Midt 3 | 1 | 49 | 2.0 % | 17 | 33 | 34.0 % |

For 3 av anleggene viste de triploide gjennomgående mer deformasjoner enn de diploide, mens for 2 av anleggene var forskjellene små og mest trolig uten betydning i praktisk oppdrett.

Skadene som var mest vanlige i anleggene med forhøyet innslag av triploid deformert fisk var begynnende virvel kompresjoner i haleregionen (Fig. 1). Disse skadene kan gi økt risiko for utvikling av korthaler frem til slaktestørrelse.

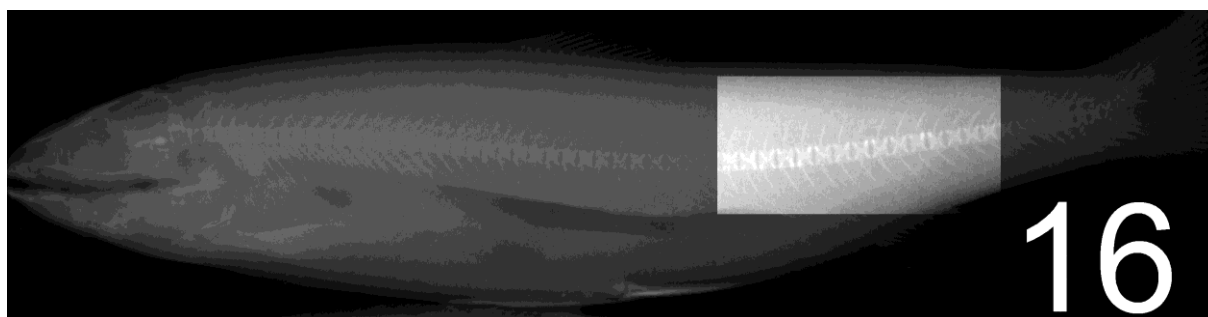
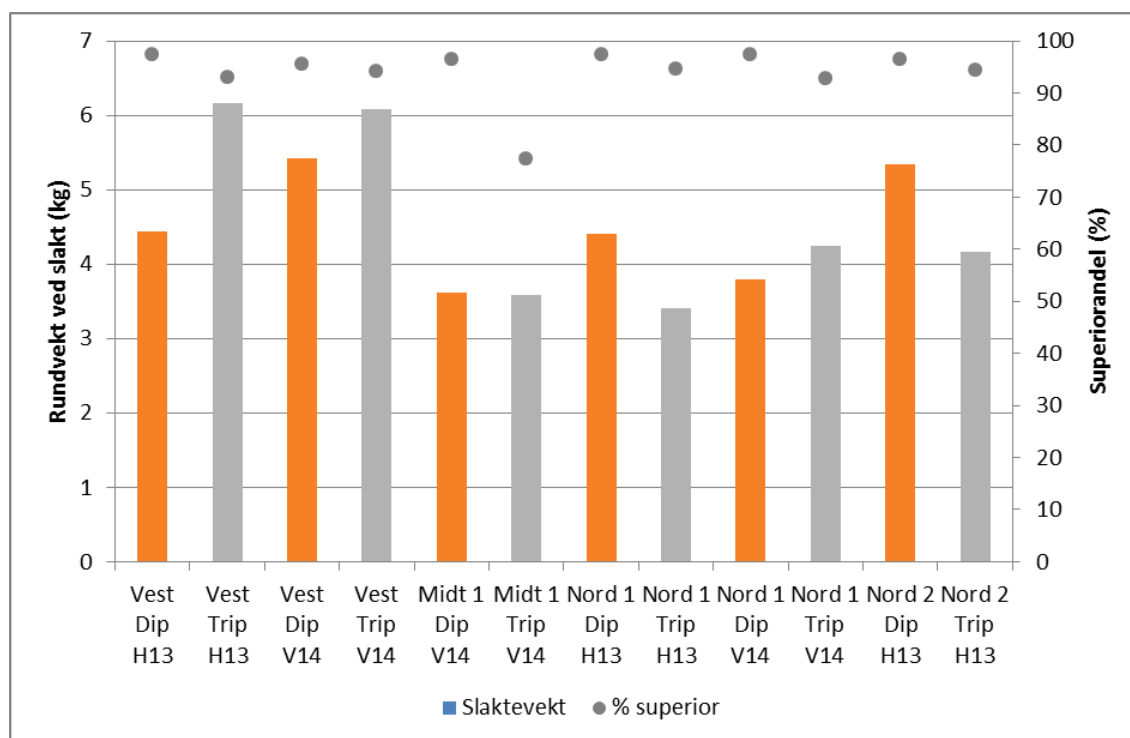


Fig. 1. Viser röntgenbilde av triploid smolt med begynnende kompresjoner i virvler i haleregionen (område med økt kontrast).

Slakteresultater

I forbindelse med slakting er det innhentet konvensjonelle slakterapporter samt at det er gjennomført individkontroll med registrering av deformiteter og katarakt. Det har vist seg at slakterapportene har gitt den sikreste informasjonen, da individregistreringene har vært vanskelig å standardisere mellom kontrollørene og fordi den gjerne er utført ved manuell linje som gir et lite representativt bilde av populasjonen.

Slaktedataene bekrefter at det er relativt små forskjeller i tilvekst mellom triploid og diploid laks når de sammenlignes over en full produksjonssyklus. Det oppnås gjennomgående gode superiorandeler også for den triploide fisken, men det har i enkelte tilfeller vært økt nedklassing grunnet deformitet (Midt 1) og mer sår (Nord 1).



Beholdning i sjø per desember/januar 2015

| | Cermaq AS | Eide Fjordbruk AS | Midt Norsk Havbruk AS | Nordlaks Oppdrett AS | NovaSea AS |
|--------------|-----------|-------------------|-----------------------|----------------------|------------|
| S013 | Utslaktet | Utslaktet | Destruert | Utslaktet | Utslaktet |
| S114 | Utslaktet | Utslaktet | Utslaktet | Utslaktet | Destruert |
| S014 | 430 tonn | 231 tonn | N/A | 409 tonn | N/A |
| S1 15 | 191 tonn | 320 tonn | 221 tonn | N/A | 150 tonn |
| S015 | 57 tonn | 29 tonn | N/A | 25 tonn | N/A |

N/A Ikke produsert da AquaGen ikke klarte å levere tilstrekkelig rogn til rett tid.

Fiskestørrelse (g) per 31.12.2015

| | S014 | S115 | S015 | S116 |
|------------------------------|------|------|------|-----------|
| Cermaq AS | 4432 | 2185 | 525 | Ferskvann |
| Eide Fjordbruk AS | 6613 | 3806 | 322 | Ferskvann |
| Midt Norsk Havbruk AS | N/A | 1525 | N/A | Ferskvann |

| | | | | |
|-----------------------------|------|-----|-----|-----------|
| Nordlaks Oppdrett AS | 3024 | N/A | 159 | Ferskvann |
| NovaSea AS | N/A | 149 | N/A | Ferskvann |

N/A : AquaGen klarte ikke å levere tilstrekkelig rogn til produksjon av både S0 og S1