

Aerob utholdenhetstrening for bedret hjertefunksjon og helse hos oppdrettslaks

FHF-prosjekt 522014

Harald Takle¹ (PL), Torstein Kristensen², Ståle Helland¹ og Barbara Grisdale-Helland¹





Nofima er et næringsrettet forsknings-konsern som skal øke konkurranse-kraften for matvareindustrien, herunder akvakulturnæringen, fiskerinæringen og landbruksnæringen. Konsernet omfatter tidligere Akvaforsk, Fiskeriforskning, Matforsk og Norconserv, og har ca. 430 ansatte. Virksomheten er organisert i fire forretningsområder; Marin, Mat, Ingrediens og Marked. Konsernet har hovedkontor i Tromsø og virksomhet i Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Averøy.

Hovedkontor Tromsø
Muninbakken 9–13
Postboks 6122
NO-9291 Tromsø
Tlf.: 77 62 90 00
Faks: 77 62 91 00
E-post: nofima@nofima.no

Internett: www.nofima.no



Vi driver forskning, utvikling, nyskaping og kunnskapsoverføring for den nasjonale og internasjonale fiskeri- og havbruksnæringa. Kjerneområdene er avl og genetikk, fôr og ernæring, fiskehelse, bærekraftig og effektiv produksjon samt fangst, slakting og primærprosessering.

Nofima Marin
Muninbakken 9–13
Postboks 6122
NO-9291 Tromsø
Tlf.: 77 62 90 00
Faks: 77 62 91 00
E-post: marin@nofima.no

Internett: www.nofima.no

Rapport

	<i>ISBN:</i> 978-82-7251-652-8	<i>Rapportnr.:</i> 20/2008	<i>Tilgjengelighet:</i> Åpen
<i>Tittel:</i> Aerob utholdenhetstrening for bedret hjertefunksjon og helse hos oppdrettslaks FHF-prosjekt 522014 Prosjektperiode 1.6.2007 – 10.10.2008	<i>Dato:</i> 13. oktober 2008		
	<i>Antall sider og bilag:</i>		
<i>Forfatter(e):</i> Harald Takle ¹ , Torstein Kristensen ² , Ståle Helland ¹ og Barbara Grisdale-Helland ¹	<i>Prosjektnr.:</i> 2479		
<i>Oppdragsgiver:</i> Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond	<i>Oppdragsgivers ref.:</i> 522014		
<i>Tre stikkord:</i> Trening, immunforsvar, vekst			
<i>Sammendrag: (maks 200 ord)</i> Se kapittel 1			
<i>English summary: (maks 100 ord)</i>			

¹ Nofima Marin (tidligere Akvaforsk)

² NIVA

Innhold

1	Sammendrag.....	1
2	Prosjektbeskrivelse.....	2
3	Delforsøk 1: Trening av fisk og evaluering av effekter.....	3
4	Delprosjekt 2: Feltregistrering av villaks	9
5	Delprosjekt 3: Feltregistrering av kommersiell laks	10
6	Tekniske utfordringer/løsninger	11
7	Formidling og publisering	12
8	Økonomi.....	14

1 Sammen drag

Prosjektet hadde som hovedmål å undersøke effekten av aerob utholdenhetstrening som metode for å bedre hjertefunksjon og helse hos laks.

Prosjektet gav klare indikasjoner på at trening av lakseparr har positive effekter på smoltkvalitet. Det viktigste funnet var at trent fisk viste større overlevelse når den ble utsatt for en IPN challenge test. Foreløpige resultat tyder på at dette har sammenheng med at trening reduserer kroniske betennelsesprosesser i fisken slik at den er i bedre stand til å takle sykdomsutbrudd. Trening hadde også en signifikant effekt på vekst og trent fisk viste en forbedring i å økonomisere svømmingen. I prosjektet har det også blitt gjennomført innsamling av parr og smolt fra fire norske elver, analyser av dette materialet pågår fortsatt. Den kommersielle delen av prosjektet har i all hovedsak blitt overført til det allerede innvilga oppfølgingsprosjekt TrenFisk2.

Prosjektgruppen har jobbet aktivt med å presentere prosjektet på en best mulig måte gjennom foredrag til næringen og ved å få antatt et innslag på NRK programmet Schrødingers katt. Sist nevnte innslag medførte mye positive tilbakemeldinger og gode informasjonsflyt til både næringen og folk flest. Prosjektet har også blitt omtalt i en rekke medier nasjonalt og internasjonalt. Det er planlagt tre vitenskapelige publikasjoner fra prosjektet.

En hovedutfordring i det videre arbeidet blir å 1) optimalisere treningsprotokoller; 2) utarbeide strategier og løsninger for hvordan prinsippet om trening av fisk kan overføres i praksis til næringen. Resultatene fra dette prosjektet (522014) blir nå fulgt opp av et nytt FHF prosjekt hvor hovedmålet er å videreutvikle og fremskaffe bedre grunnlag for å kommersialisere eksisterende resultat. Prosjektgruppen har i tillegg sendt inn et prosjektforslag til NFR hvor en legger opp til å jobbe spesielt aktivt med optimalisering av treningsprotokoller.

2 Prosjektbeskrivelse

Partnere: Nofima Marin (Harald Takle, Barbara Grisdale-Helland og Ståle Helland), NIVA (Torstein Kristensen og Trond Rosten), NTNU medisin (Jan Helgerud), NTNU kybernetikk (Thelma), VESO, NVH (Trygve Poppe), og Aakvik settefisk AS (Brit Tørud).

Prosjektet tok utgangspunkt i litteratur fra 80- og 90-tallet, som viste at trening kunne ha mange positive effekter på fiskens vekst og oksygenforbruk. I tillegg ønsket prosjektgruppen å studere eventuelle positive effekter av trening på sykdomsmotstand. Bakgrunnen er at det er en oppfatning om at den relativt høye uspesifikke dødeligheten i lakseoppdrett kan ha sammenheng med livsstilen til laksen. Blant annet har det i lengre tid vært en bekymring relatert til funnene av hjerter med avvikene form.

Delmål (originale)

- Designe utholdenhetsprogram gjennom:
 - Fastsettelse av maksimal hjertefrekvens målt med akustisk telemetri og oksygenforbruk hos ulike størrelsesgrupper av laks gjennom svømmerespirometri.
 - Bygge opp forsøksenheter med optimalt strømbilde for å gjennomføre utholdenhetstrening i runde kar
- Evaluere effekt av trening med forskjellig intensitet ved å benytte svømmetester i respirometer, samt ved å utføre ulike morfometriske, histologiske og biokjemiske analyser av fisken
- Evaluere om trening av parr styrker immunforsvarer hos fisken ved hjelp av smittetest
- Feltregistrere villfisk av ulik størrelse fra ulike lokaliteter for å få et mål for normal hjertemorfometri og –morfologi, samt å finne basisnivå for viktige biokjemiske parametere
- Feltregistrere kommersiell fisk av ulik størrelse fra ulike lokaliteter for å få et mål for normal hjertemorfometri og –morfologi, samt å finne basisnivå for viktige biokjemiske parametere

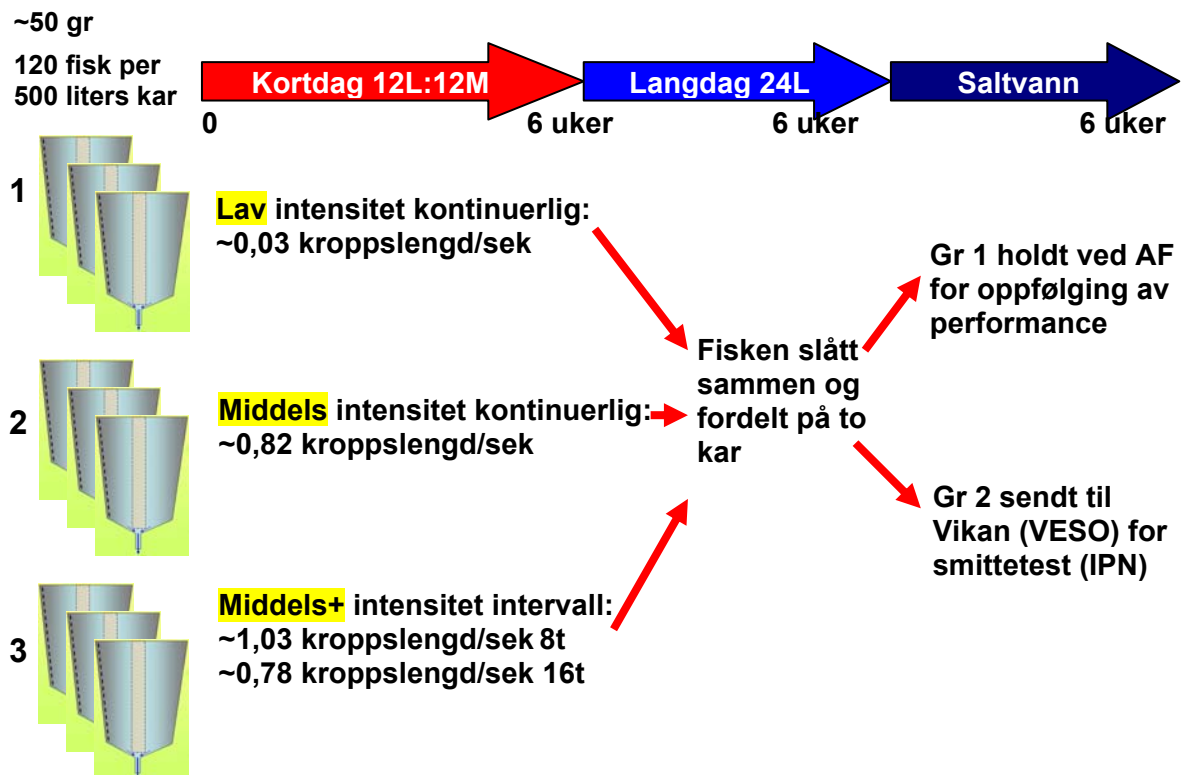
3 Delforsøk 1: Trening av fisk og evaluering av effekter

Treningsforsøket var den viktigste delen av prosjektet. Før oppstart av forsøket ble det jobbet intensivt med tilpassning av 500 liters oppdrettskar for å kunne gjennomføre forsøket på en best mulig måte. For å øke strømningshastigheten i de sirkelrunde karene med konisk bunn ble det manipulert med:

1. Trykket i ringledningene som ga vann til karene
2. Diameterne på dyseåpningene og antall åpninger i innløpsrørene.

Maksimum ledningstrykk resulterte i en vanngjennomstrømning som var større enn det avløpssystemet til karene kunne håndtere. For å få utnyttet det maksimale strømningshastigheten i dette oppsettet (16 cm/sek eller 1 kroppslengde (kl)/sek) måtte vi manuelt øke trykket fra 0,9 til 1,35 bar, samt senke avløpet og justere på en avløpsventil. Vår erfaring med laks i disse karene er at de slipper seg og driver med vannstrømmen hvis hastigheten økes noe særlig over 0,5 kl/sek. For å unngå dette problemet ble det montert et gjerde i karene. Dessuten ble det plassert et rør (20 cm i diameter) i midten av karene for å fjerne muligheten for at fiskene skulle plassere seg i et område med tilnærmet null vannhastighet.

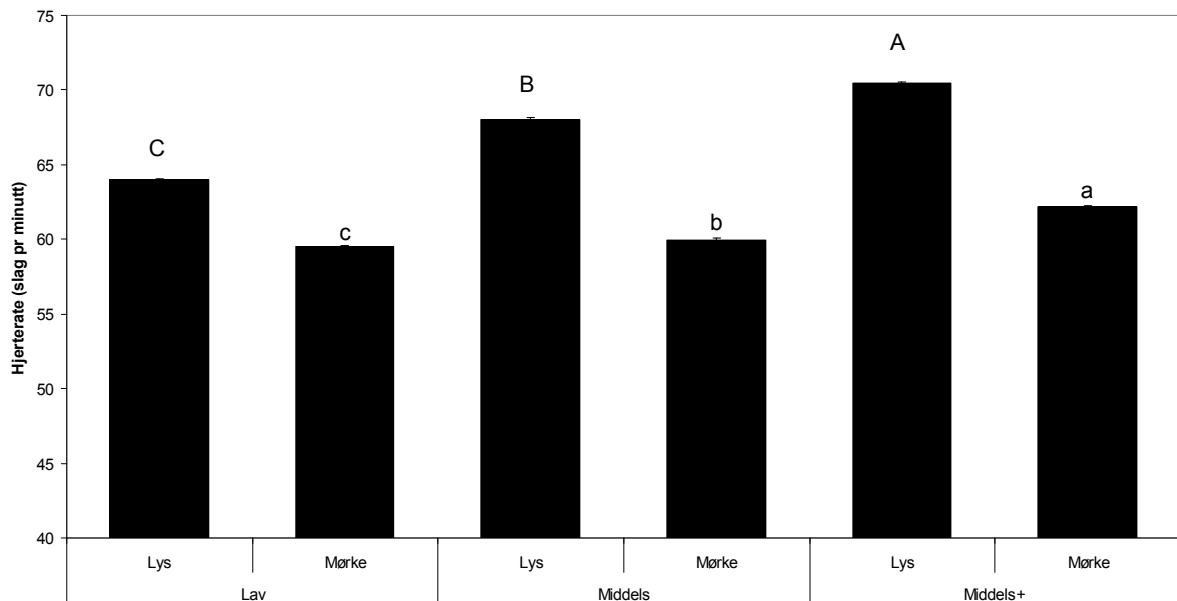
Treningen ble kort beskrevet gjennomført i 6 uker i kortdagsperioden som er en del av lysstyringen som bidrar til smoltifisering av laks (Fig. 1).



Figur 1 Oversikt over treningsforsøket.

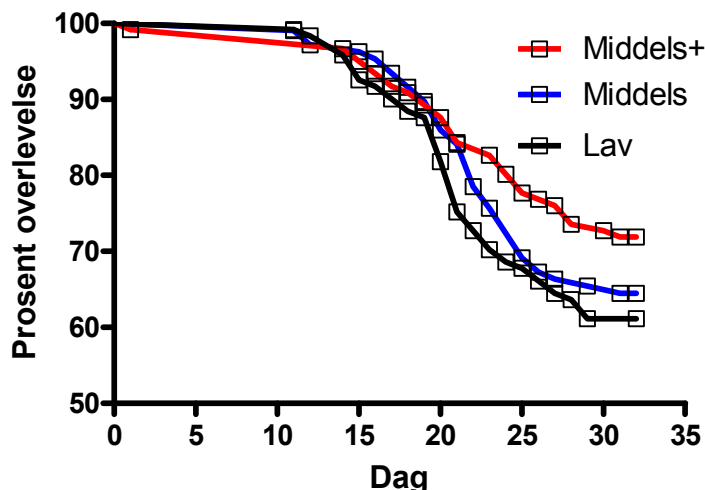
Hjerteratemålerne basert på akustisk telemetri ble utviklet av Thelma AS som en del av prosjektet. Samtidig med oppbygging av forsøksenhetene ble det hjerteratemålere uttestet, og en prosedyre for innoperering utviklet. Grunnet tidspress var det ikke mulig å gjennomføre forsøk for å finne maksimal hjerterefrekvens før forsøket startet. Imidlertid ble hjerterate målt til omtrent 90 slag pr minutt i perioden etter innoperering, noe som korresponderer med tall i litteraturen på maksimal hjerterate for fisk av denne størrelsen ved 10-12 grader. Hjerteraten ble målt gjennom forsøksperioden, og viser moderat forhøyede nivåer i treningsgrupper, sammen med en effekt av lys/mørke (for middels+ gruppen sammenfalt lys og økt vannhastighet).

Hjerterate i lys og mørke gjennom treningsperioden



Figur 2 Hjerterate (gjennomsnitt, SE) for behandlingsgruppene i forsøksperioden, fordelt på lys/mørke perioder.

Trening av laks i løpet av bare 6 uker i kortdagsperioden før smoltifisering viste svært lovende resultat som kan videreutvikles og gi en fremtidig overføringsverdi av stor betydning for næringen. Det mest lovende resultatet er at trent fisk viste bedre overlevelse (72 %, $p=0.07$ (middels+) og 64% (middels)) når den ble utsatt for en IPN smittetest hos VESO sammenliknet med utrent fisk (61%) (Fig. 3).

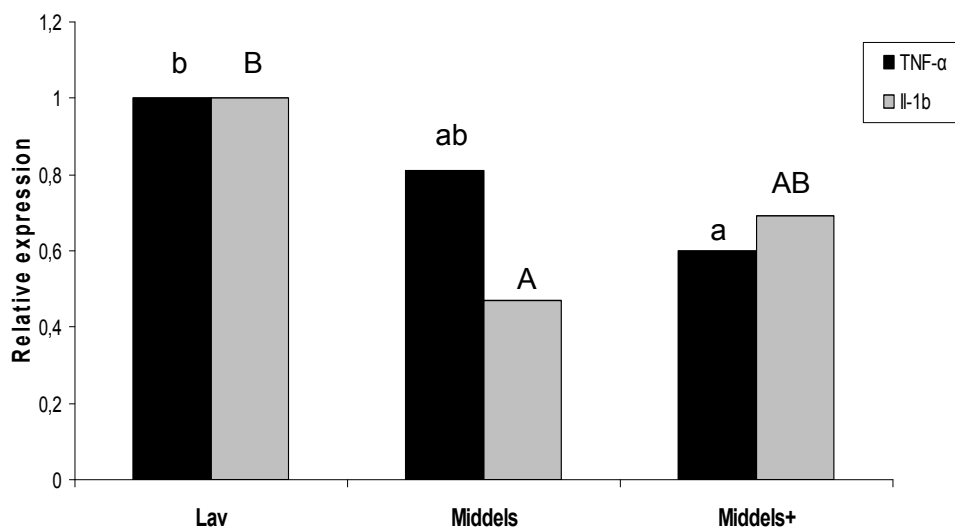


Figur 3 Effekt av 6 ukers trening ved enten middels eller middels+ intensitet sammenliknet med utrent fisk etter en kohabitant IPN smittetest startet 7 uker etter endt trening.

Det er videre interessant at det var så stor forskjell i overlevelse mellom de to treningsoppleggene. For å undersøke disse resultatene nærmere vil treningens effekt på immun- og stressgener studeres i TrenFisk2. Fra human medisinen er det kjent at trening har fordelaktige effekter på immunstatus ved at det systemiske betennelsesnivået blir dempa (Brunnsgaard, 2005. J Leukocyte Biol 78, 819-835). Påvisning av kroniske betennelsesreaksjoner er sterkt assosiert med livsstilsfaktorer som fedme og feilernæring hos mennesker, og tilstanden er direkte knytta opp i mot en rekke sykdommer blant annet hjertefeil. Det har blitt påvist at trening kan redusere nivåene av blant annet TNF- α og Il-1 β , som er viktige tidlige kontrollfaktorer som er med på å styre lokale betennelsesreaksjonsprosesser samt at de kan initiere systemisk akutfase responser. Spesielt TNF- α er viktig, og denne faktoren er godt studert hos pattedyr. Blant annet har det blitt vist at redusert nivå av TNF- α beskytter mus mot skadelige effekter når de blir utsatt for influensa virus (Hussel et al., 2001. Eur J Immunol 31, 2566-2573).

Foreløpige resultat viser at middels+ intensiv trening førte til en nedregulering av TNF- α (signifikant) og Il-1 β , 6 uker etter avslutta trening (Fig. 4). Begge faktorene var også nedregulert på samme tidspunkt for fisken som hadde trent ved middels intensitet, men bare Il-1 β var signifikant nedregulert. Siden TNF- α er den viktigste betennelsesfremmende faktoren, støtter disse foreløpige resultatene opp om funnene i IPN challenge testen. Disse resultatene vil bli analysert videre i TrenFisk2.

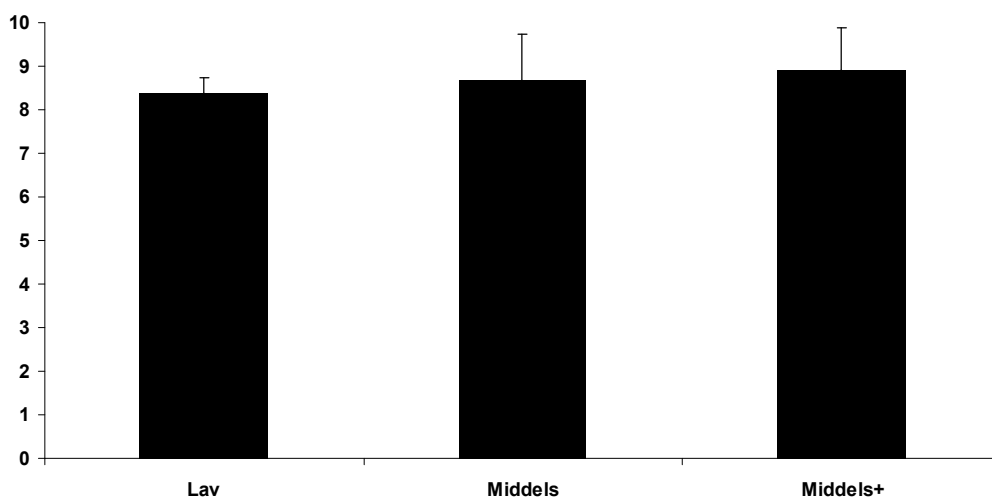
TNF- α og Il-1 β genekspressjon analysert i hjerter samlet 6 uker etter treningsperioden



Figur 4 Genuttrykk av TNF- α og Il-1 β i hjerter fra smolt 6 uker etter avsluttet trening ved enten middels eller middels+ intensitet sammenliknet med utrent fisk. Analysene ble utført med Real-Time RT-PCR og resultatene analysert ved hjelp av REST-XL.

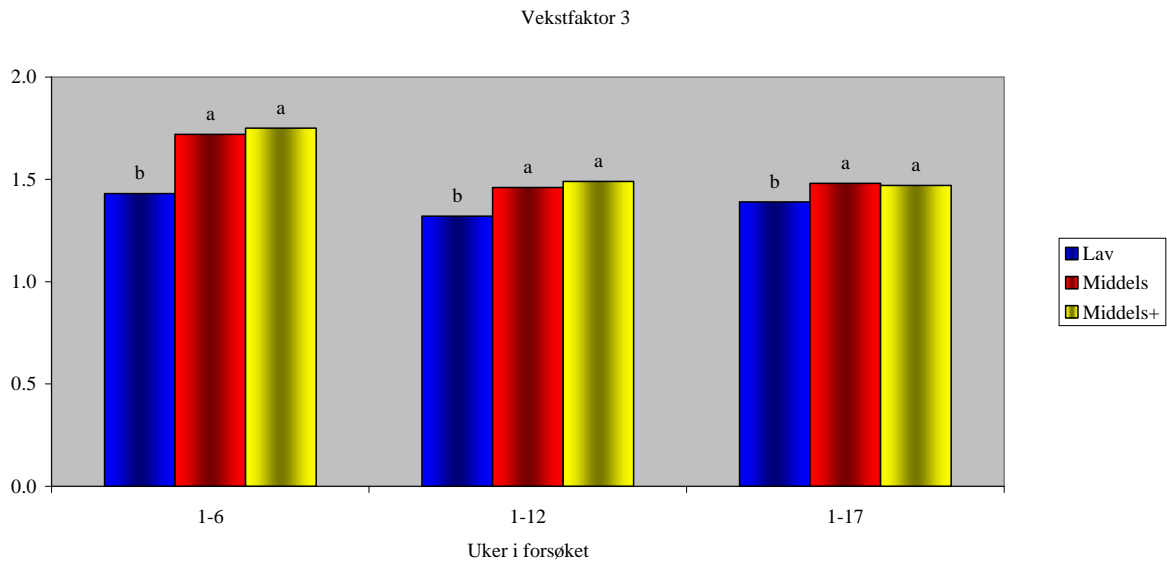
ATPase ble målt hos et representativt utvalg fisk fra hver av de tre behandlingene og resultatene viste at alle grupper var innen smoltvinduet når de ble overført til henholdsvis saltvann og smittetest (Fig 5). Det var ingen signifikant forskjell mellom gruppene så smoltifiseringsgrad kan ikke forklare at trent fisk viste bedre overlevelse i smittetesten.

ATPase



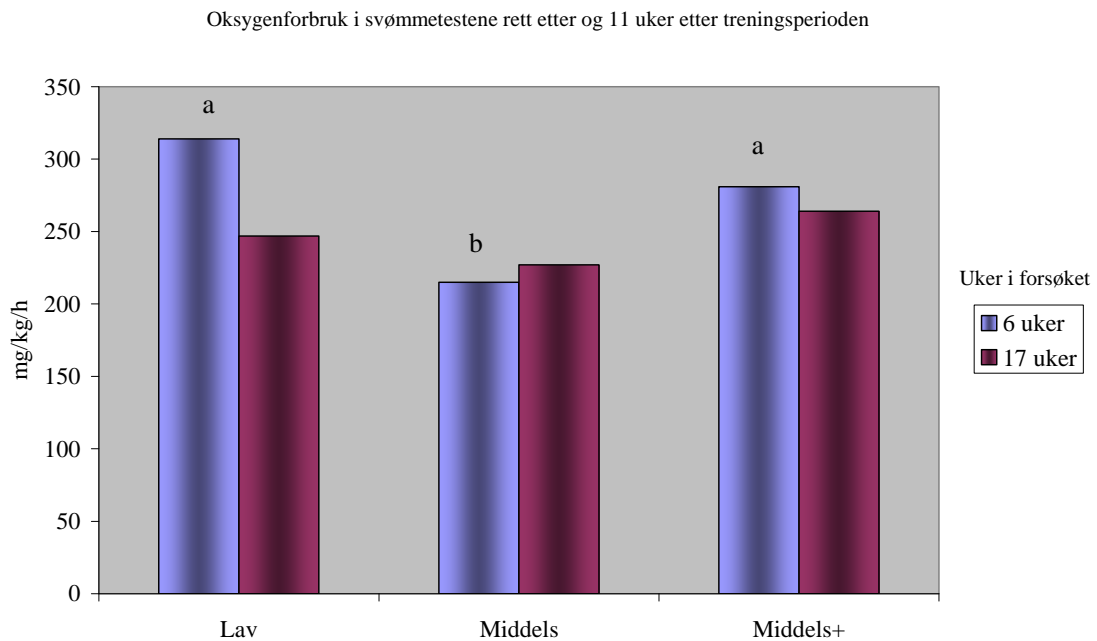
Figur 5 Det ble ikke funnet signifikante forskjeller i mengde ATPase hos de tre gruppene lav, middels og middels+ ved overføring til sjøvann.

Trening hadde også en positiv effekt på vekstraten både under og etter treningsperioden (Fig 6), men forutnyttelsen var ikke påvirket. Det var ingen effekt av trening på kroppssammensetning, og heller ikke på protein- eller energiretensjon.



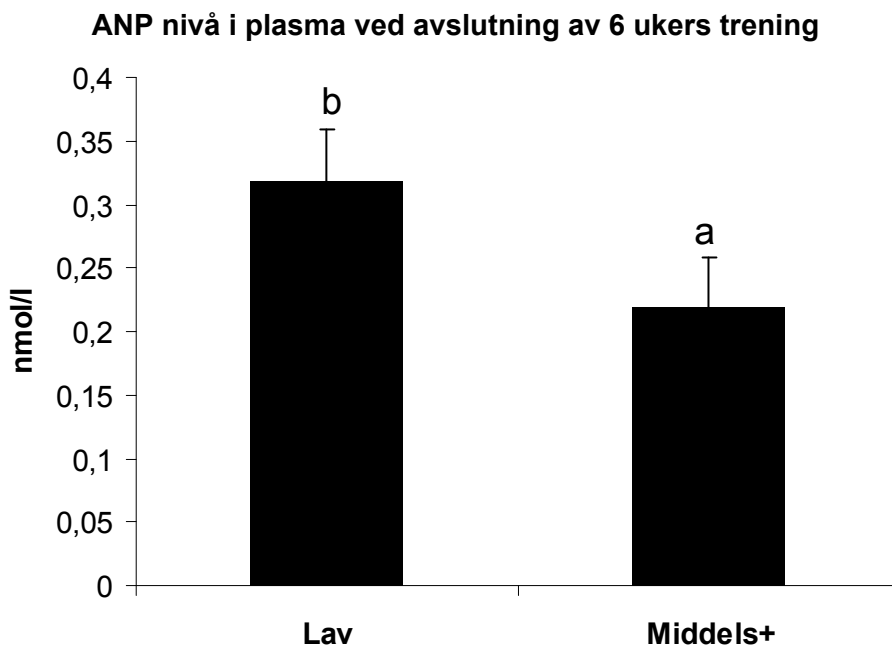
Figur 6 Effekt av 6 ukers trening på vekstrate målt ved avsluttet trening, 6 og 11 uker etter trening.

Den tredje betydningsfulle observasjonen fra forsøket var at trent fisk hadde økt sin evne til å økonomisere svømmingen. Dette ble vist ved at trent fisk forbrukte mindre oksygen når de ble testet i svømmerespirasjonskammer etter 6 uker med trening (Fig. 7).



Figur 7 Forbruk av oksygen per kilo fisk per time for henholdsvis utrent og trent fisk umiddelbart etter trening (6 uker) og 11 uker etter trening (17 uker).

For å se om svømmetreningen hadde noen positive effekter på hjertets biokjemi ble mengden av hjertehormonet atrielt natriuretisk hormon (ANP) målt. ANP utøver mange effekter, blant de viktigste er positiv regulator av vasodilatasjon. Fra humane studier er det kjent at friske hjerter skiller ut mindre ANP enn syke hjerter. Det har også blitt vist at trening av hjertepasienter signifikant reduserer både nivået av vasokonstriksjon og ANP i plasma (Braith et al., 1999. J Am Coll Cardiol 34, 1170-1175). Resultatene våre viste at fisk fra middels+ intensitetsgruppen hadde signifikant lavere nivå av ANP ved avslutning av 6 ukers trening (Fig. 8). Det lavere ANP nivået hos trent fisk kan tyde på at trening bedrer blodsirkulasjonen slik at behovet for ANP for å øke utvidelsen av blodårene minker.



Figur 8 Effekt av 6 ukers trening på mengde ANP i plasma hos henholdsvis fisk holdt ved lav og middels+ intensitet målt ved avslutning av treningsperioden.

Når det gjaldt de histologiske undersøkelsene ble det ikke funnet noen signifikante funn (tabell 1).

Tabell 1 Hjertediagnostikk.

Intensitet	Diagnostikk			
	Sjøutsett 12 uker		Ved avslutning 17 uker	
	Fett epikard	Fortykket epikard	Fett epikard	Fortykket epikard
Lav	4/9 (3 uttalt)	ua	ua	ua
Middels	2/9 (1 uttalt)	ua	2/9	2/9
Middels+	4/9 (2 uttalt)	ua	ua	1/9

4 Delprosjekt 2: Feltregistrering av villaks

Prøvetaking av vill laksesmolt og lakseparr ble gjennomført i mai-juni 2008. Basert på pågående forskningsprosjekter der vandringsfeller for smolt var i drift, og tillatelse fra de ulike prosjekteiere til å gjennomføre prøvetaking, ble elvene Storelva (Aust-agder, NIVA v/Frode Kroglund), Eira (Møre og Romsdal, NINA v/Bengt Finstad), Driva (Møre og Romsdal, NTNU-LFI, v/Jo Vegar Arnekleiv) og Halselva (Finnmark, NINA v/Bengt Finstad) prøvetatt. En stor takk rettes til de respektive prosjekteiere for samarbeidet.

Tabell 2 Detaljdata på prøvetakingslokaliteter og prøvetatt fisk (gjennomsnitt \pm SD).

Lokalitet	Posisjon (UTM32N)	Dato	Stadie	N	Lengde (cm)	Vekt (g)
Storelva	6500028/494269	06.05.2008	parr	10	7,7 \pm 0,4	3,9 \pm 0,65
Storelva	6503281/498880	06.05.2008	smolt	10	15,5 \pm 1,6	26,9 \pm 9,3
Eira	6945911/454000	31.05.2008	parr	10	8,6 \pm 1,0	5,3 \pm 1,5
Eira	6950055/454967	11.05.2008	smolt	10	13,2 \pm 1,1	16,9 \pm 4,2
Driva	6946239/485124	10.05.2008	parr	7	5,9 \pm 2,1	2,1 \pm 2,9
\pm Driva	6948033/480969	10/30.05.2008	smolt	10	14,4 \pm 0,9	21,7 \pm 4,2
Halselva	7829563/1027542	17.06.2008	parr	10	9,2 \pm 1,3	5,7 \pm 2,4
Halselva	7830354/1028411	17.06.2008	smolt	10	14,2 \pm 1,0	20,6 \pm 4,5

All fisk ble prøvetatt med tanke på å kunne fungere som referansemateriale i flere sammenhenger. Innenfor rammen av dette prosjektet ble hjerter fotografert og konservert for analyser av biokjemiske markører og histologi. Plasmaprøver for biokjemiske markører ble tatt av all fisk der størrelsen tillot det (> 6-7 g). Prøvematerialet er p.t. under analyse og bearbeiding, og vil rapporteres oppdragsgiver når alle analyser foreligger.

5 Delprosjekt 3: Feltregistrering av kommersiell laks

Denne aktiviteten ble bestemt overført til det allerede innvilga FHF oppfølgingsprosjektet "TrenFisk2". Dette skyldes en totalvurdering hvor prosjektgruppen ikke fant de formålstjenlig å iverksette delprosjekt 3 når et nytt og bedre prosjektforslag for denne aktiviteten allerede var innvilga. det ble for øvrig utført noe planleggingsarbeid og et besøk hos Aakvik settefisk så det påløp noen utgifter (se kapittel 8).

6 Tekniske utfordringer/løsninger

De karene som ble brukt er designet som grupperespirasjonskar (Grisdale-Helland & Helland, 1995) hvor oksygenforbruket til fiskene kan måles automatisk flere ganger om dagen gjennom en lengre vekstperiode. På grunn av behovet for høy hastighet under intervalltreningen, måtte oksygenmålingene under vekstperioden ofres. Det vil derfor være ønskelig om grupperespirasjonskarene kan videre modifiseres, slik at vi også kan måle oksygenforbruket til fiskene i vekst/treningsperioden. Oksygenmålingene fra svømme-respirasjonskarene tilførte konklusjonene fra dette forsøket vesentlig informasjon. Målingene ble gjort med små grupper av fisk og det vil være ønskelig å modifisere svømme-respirasjonskarene slik at vi kan bruke dem for målinger på individ fisk siden enkelte individer nekter å svømme.

7 Formidling og publisering

Prosjektgruppen har vært aktive med å formidle resultatene til næringen gjennom foredrag og mediekontakt. Av størst betydning var et lengre innslag på Schrødingers katt (NRK), et vitenskapelig program som blir sendt i beste sendetid.

Media (utdrag):

- **Schrødingers Katt (NRK)**
 - 4.5 min innslag 17. april
- **Laks og Arsenal trener intervall**
Matnyttig – Nummer 1, 2008.
- **Betre rusta mot IPN**
Kyst.no - 21.08.2008 09:51
Ballstad: Resultat frå smittetestar med IPN viser at fisk som har fått ekstra trening har lågare dødelegheit. Fysisk trening gir også betre vekst, sier Niva-forsker Torstein Kristensen.
- **Lakseidrett skal gi toppoppdrett**
Intrafish - 08.05.2008
Med pulsklokke i magen er smålaks satt i hardtrening. Resultatene tyder på at fisken vokser raskere og blir mer robust når den er i god form.
- **Lakseidrett skal gi toppoppdrett**
Forskning.no - 05.05.2008 06:15
Med pulsklokke i magen er smålaks satt i hardtrening. Resultatene tyder på at fisken vokser raskere og blir mer robust når den er i god form.
- **Lakseidrett skal gi toppoppdrett**
Nationen - 05.05.2008
Med pulsklokke i magen er smålaks satt i hardtrening. Resultatene tyder på at fisken vokser raskere og blir mer robust når den er i god form.
- **Med treningstips fra fotball**
Harstad Tidende - 30.04.2008 18:56
Av: Ivar L. Paulsen Lakseyngel og det spanske fotballaget Barcelona har én ting til felles - trening. Trening er nemlig sunt, også for fisk, mener seniorforsker Harald Takle ved Nofima Marin (tidligere Akvaforsk).
- **Trent fisk holder seg frisk**
Kyst.no - 21.04.2008 08:13
Forskere for Niva og Nofima vil trimme fisken for å gi den bedre kvalitet og bedre helse. Det viser seg at trening kan være like positivt for fisken som det er for oss mennesker. Sykdom er en av de største utfordringene
- **Trener fisk frisk**
NRK - 17.04.2008 18:15
Ny forskning viser at oppdrettslaksen blir både friskere og større hvis den trener kondisjon hver dag. Marita Løvmo Iversen marita.lovmo.iversen@nrk.no Hilde E. Jensen Grandaunet Hilde.E.Jensen.Grandaunet@nrk.no .
- **Salmon get training tips from football**
The Fish Site Latest News – 01.05.08. NORWAY - What do juvenile salmon and Spanish football team Barcelona have in common? Both use intensive training to improve their form. The head coach is a Nofima scientist - and the training is healthy for fish too.
- **Salmon get training tips from football**
AquaFeed – 14.05.08 by Suzi Fraser

- **Salmon get training tips from football**
The Fish Update – 29.04.08
- **Salmon get training tips from football**
The Fish Farmer Magazine – 29.04.08
- **Salmon get training tips from football**
Engormix – 30.04.08

Foredrag:

- MonAqua konferansen 2007- Harald Takle
- AquaNor 2007 Chile-seminar - Harald Takle
- AquaNor 2007 NIVA happening – Torstein Kristensen
- AquaSur konferansen 2008– Harald Takle
- Lofotseminaret 2008 arrangert av Europharma – Torstein Kristensen.

Artikler:

- 1 hovedartikkel er under utarbeiding fra delprosjekt 1
- 1 artikkel er planlagt fra utviklingsarbeidet med hjerteratemålere
- 1 artikkel er planlagt fra villfiskarbeidet.

8 Økonomi

Gjennomføringen av prosjektet har vært i henhold til opprinnelig prosjektplan. Unntaket er delprosjekt 3: Feltregistrering av kommersiell laks. På grunn av en helhetsvurdering ble det bestemt av prosjektgruppen at denne aktiviteten blir overført til FHF prosjekt TrenFisk2 (FHF: 900046). For denne aktiviteten var det opprinnelig innvilget 90 000 NOK fra FHF. Prosjektgruppen vurderte det som mest hensiktsmessig å utføre det meste av denne aktiviteten sammen med TrenFisk2, og dette vil bli rapportert sammen med det prosjektet (Trenfisk2).

