

***Evaluering av tidligere forskning
på effekten av ulike mineralnivå i
fôr på utviklingen av deformiteter***
FHF prosjekt nr 900661

Grete Bæverfjord, Per Gunnar Fjelldal, Sissel Albrektsen, Bjarne Hatlen, Vegard Denstadli, Elisabeth Ytteborg, Harald Takle, Eric-Jan Lock, Marc H.G Berntssen, Anne-Kathrine Lundebye, Torbjørn Åsgård og Rune Waagbø

Nofima, NIFES, APC og HI

- Oppdrag fra FHF
- Leveranser
 - Rapport i form av reviewartikkel som skal publiseres i Aquaculture Nutrition
 - Oppsummering og anbefalinger for videre forskning til FHF
 - Faktaark/populærvitenskapelig framstilling
- Samarbeid mellom
 - Nofima
 - NIFES
 - Havforskningsinstituttet
 - APC invitert til å bidra i forhold til planteråvarer
- Referansegruppe
 - Skretting, Biomar, Ewos, Lerøy, Salmar, Marine Harvest

Status, deformiteter

- Problemet er ikke stort og dramatisk
- Problemet er vedvarende, alltid tilstede på et eller annet nivå
- Noen få alvorlige 'case'?

- Flere kjente årsaksfaktorer balanserer på kanten
 - Drift i produksjonstemperaturer
 - Fare for temperaturinduserte misdannelser OG større utfordringer mht veksthastighet og mineraler
 - Store endringer i forsammensetning i løpet av kort tid
 - Hvordan sikre tilstrekkelig mineralisering

- Observasjoner av fisk med subklinisk mineralmangel er ikke uvanlig

Hvem er ”stakeholders” i arbeidet?

- Fôrindustrien
- Fisken!
- Produksjonsselskapene
- Forskningsmiljøene
- Forbrukerne

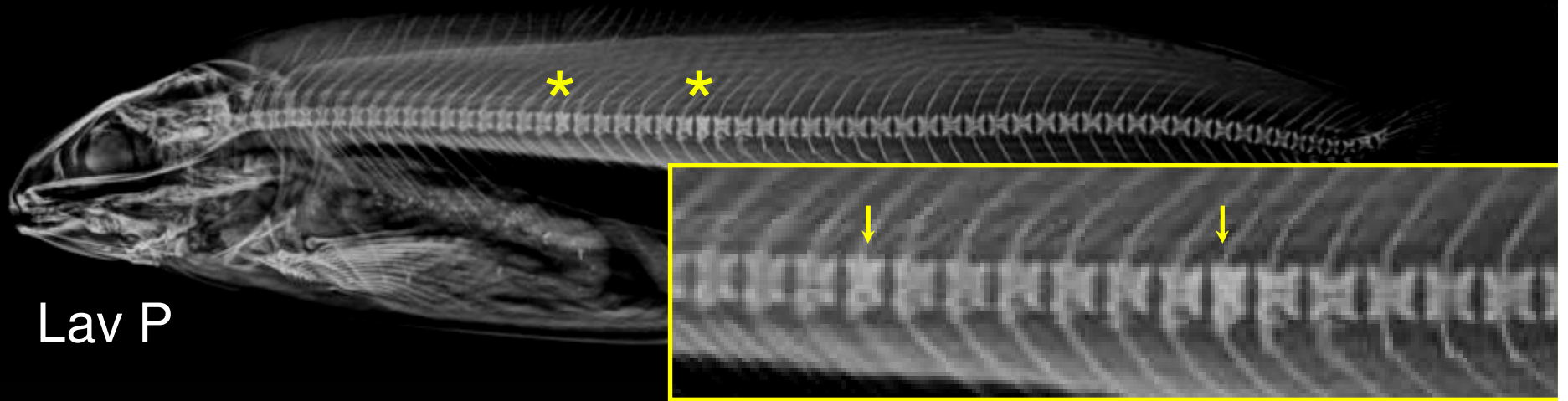
- Næringa som samfunnsaktør
- Allmenheten



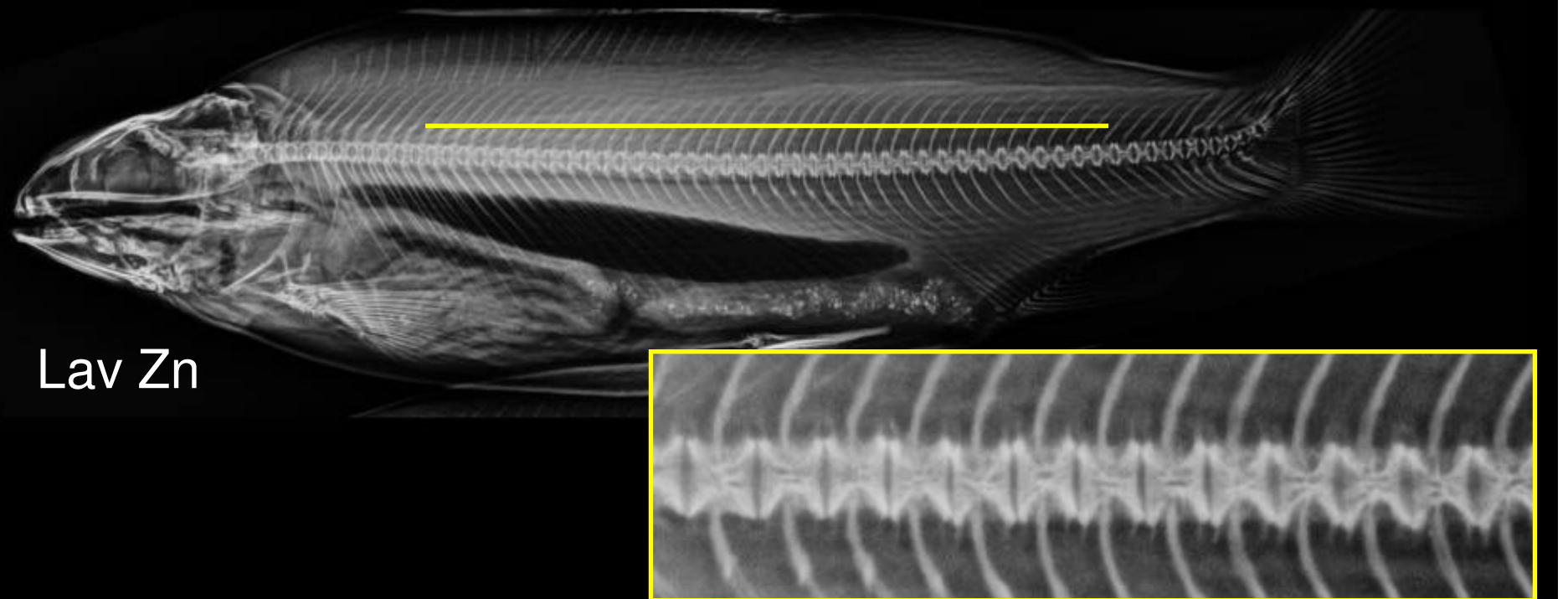
Sammenhengen mellom mineralmangel og skjelettdeformiteter

- Det er vist en sikker sammenheng mellom lave nivå av P i for, lave nivå av P i fisk, og utvikling av skjelettdeformiteter i flere store uavhengige forsøk
- Det er vist en sammenheng mellom lave nivå av Zn i fôr, lave nivå av Zn i fisk og skjelettdeformiteter
- Symptomer på subklinisk P-mangel er påvist og påvises stadig i fisk som har fått vanlig fôr
- Det er vist stor variasjon i P-innhold i fisk i grupper som har fått vanlig fôr, med en del bekymringsverdige lave verdier
- Det er vist gjennomgående lave nivå av Zn i fiskeprøver

Effekter av lav P og lav Zn i fôr til laks

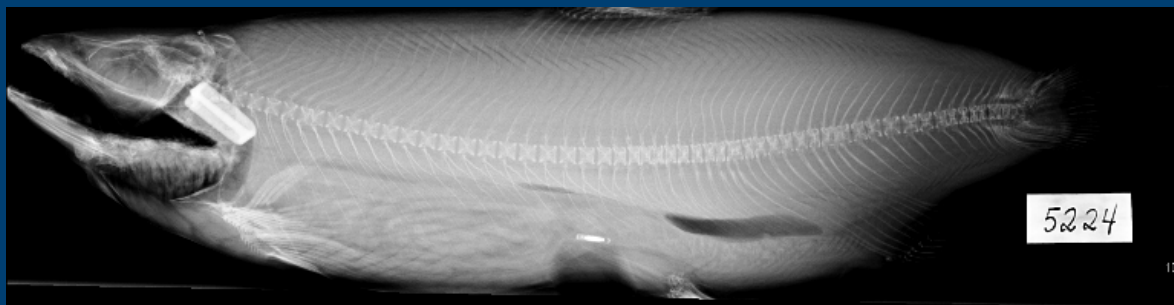
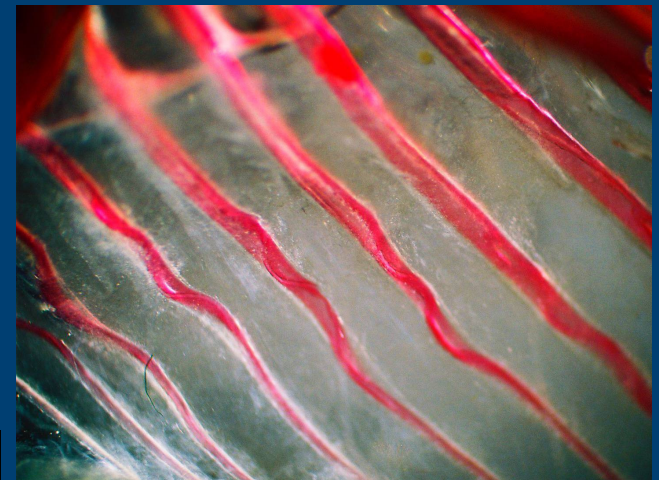


Lav P

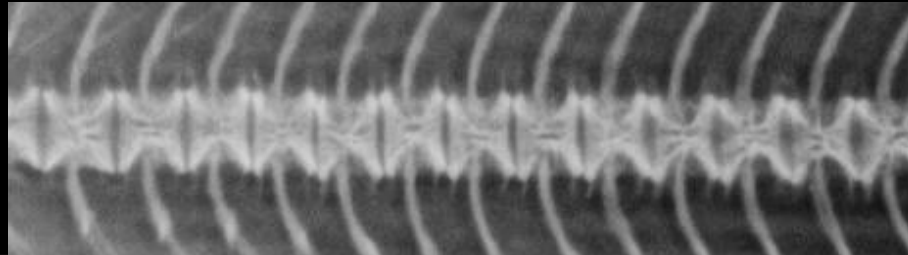


Lav Zn

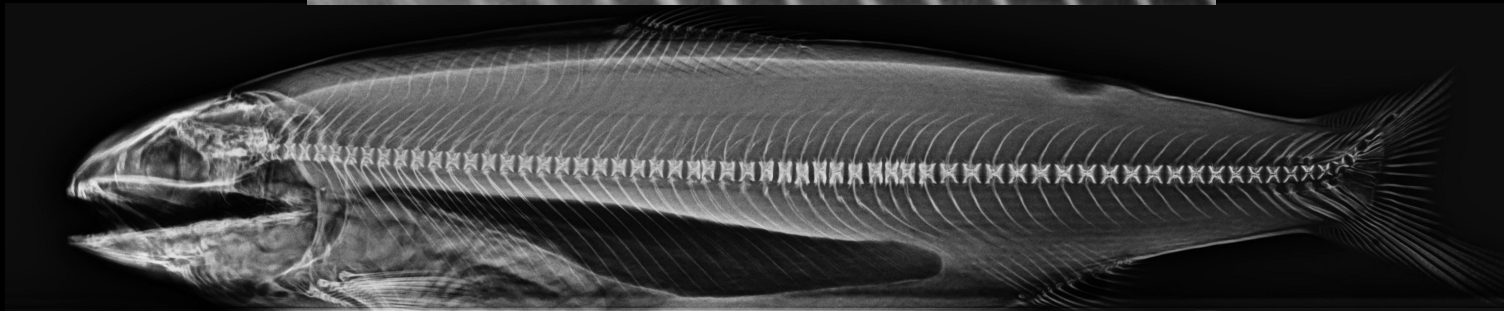
Langtidseffekter av lav P og lav Zn hos liten fisk



Sinkmangelskader i ryggvirvler - utvikling over tid



30g



Smolt



2,2 kg

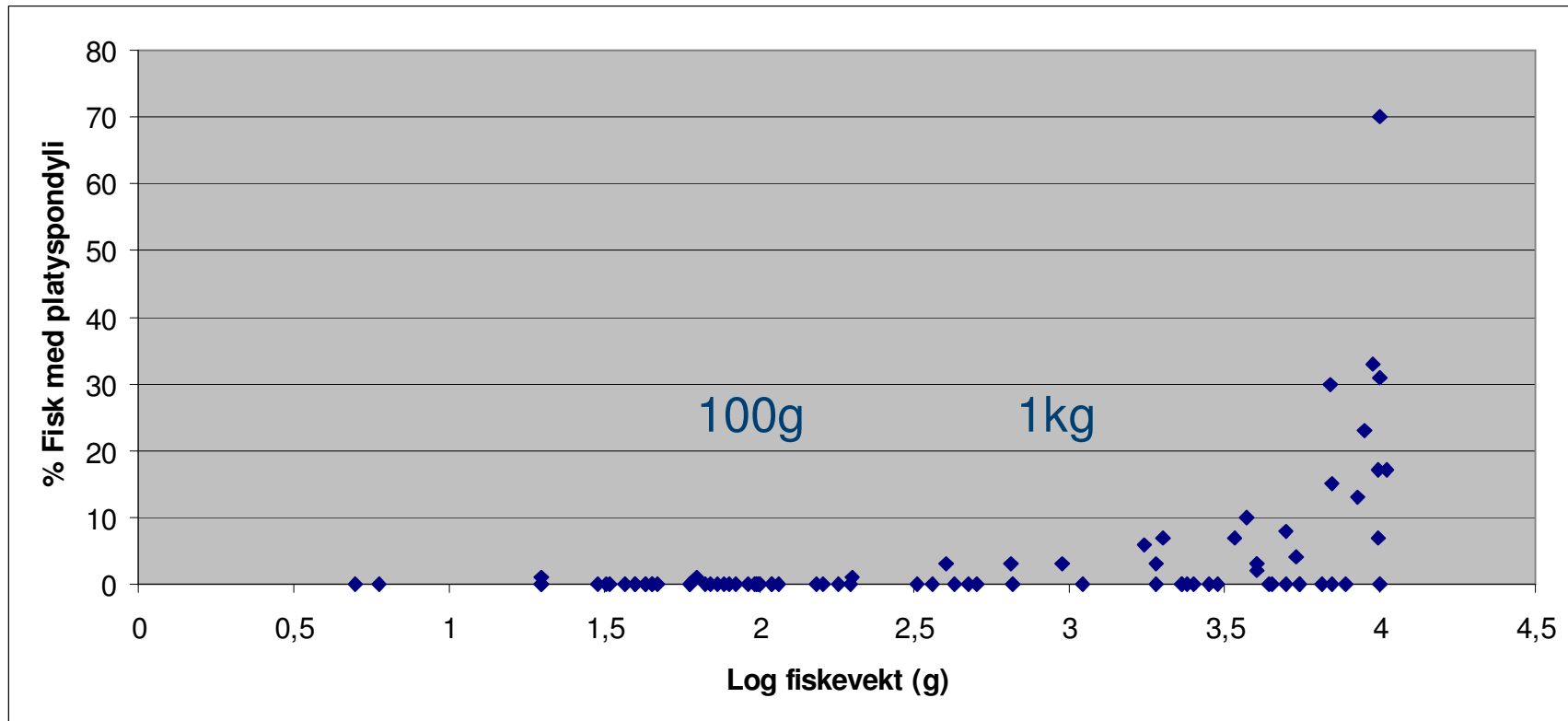
Sammenhengen mellom mineralmangel og deformiteter

- Sammenhengen er dokumentert for lav P og lav Zn
- P er mest aktuell, og det elementet som er mest undersøkt
- Andre elementer kan være aktuelle
 - Lite (ingen) nyere forskning
 - Lite som tyder på stor betydning i industrisammenheng
- Forskning siste 10 år har først og fremst vært årsaksrettet, dvs. for å vise sammenhenger, og i liten grad utformet med tanke på å definere behov
- Normal utvikling og vekst av ryggvirvler har vært forskningsfokus i flere miljøer
- Det har vært mest fokus på tidlig utvikling i studier av det normale

Omfang av problemet

Komprimerte virvler (platyspondyli) vs. fiskestørrelse

Røntgen av 87 fiskegrupper, 2006-2009

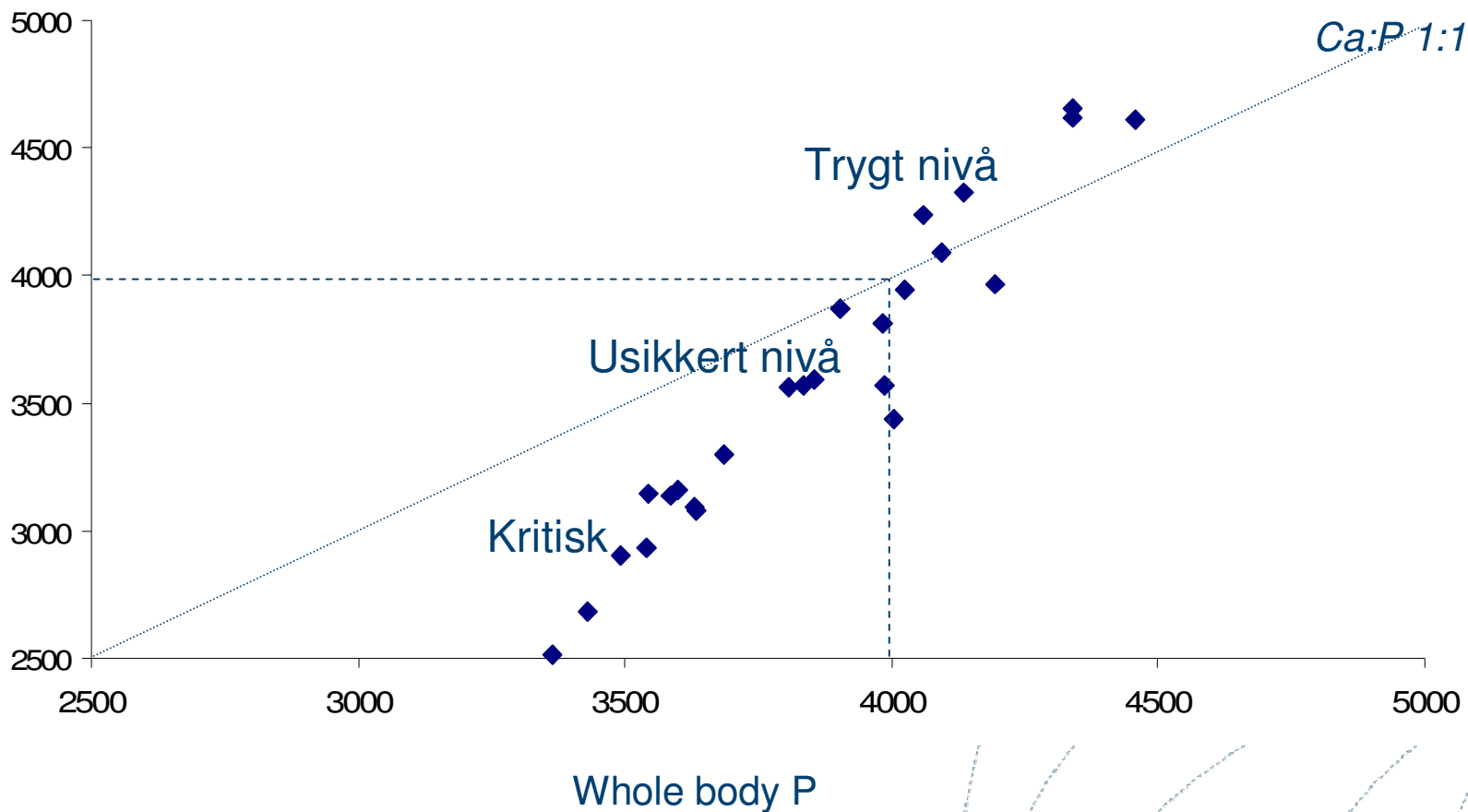


Data fra SalmoBreed

Kalsium og fosfor i laks fra kommersiell produksjon

Samleprøver á 10 fisk, fiskestørrelse 20-60g, 2006-08

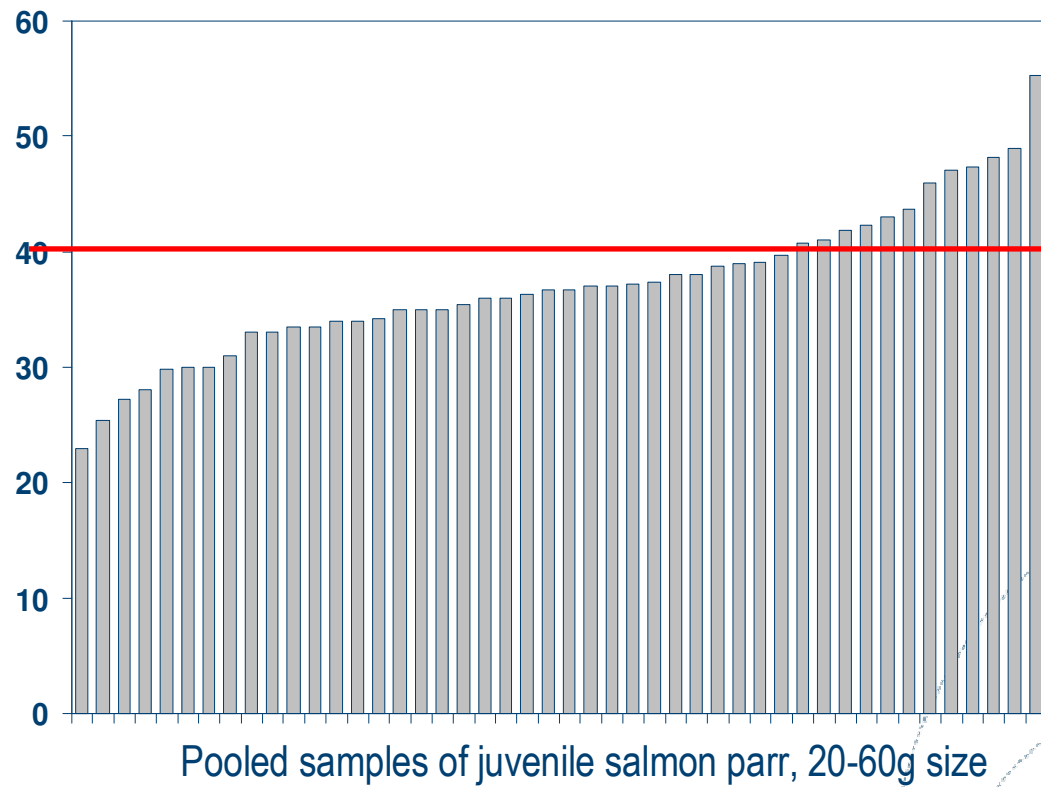
Whole body Ca



Data fra SalmoBreed og Nofima

Sink i lakseparr 20-60g fra kommersiell produksjon (2006-08)

mg Zn kg⁻¹ fish, whole body



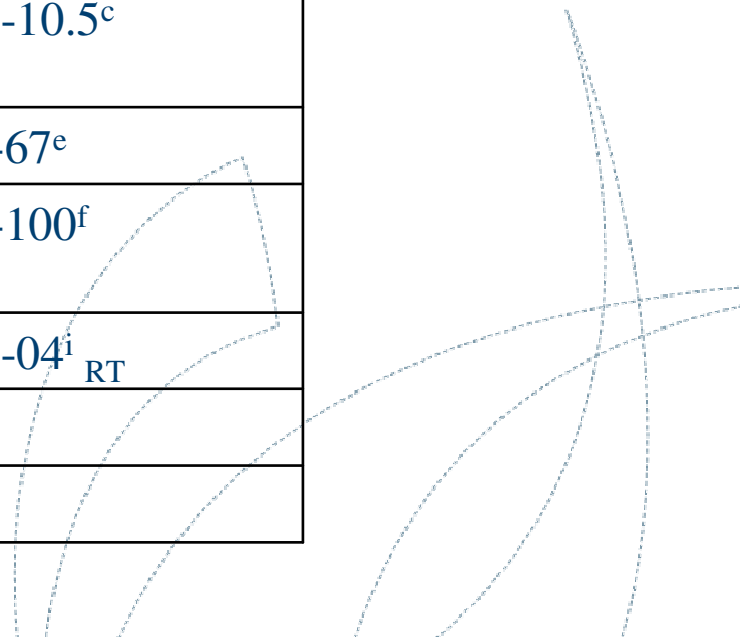
Lower limit for whole body content of zinc in juvenile A. salmon (Shearer et al., 1994)

Hvor kommer behovstallene fra?

- Lite eller ingen aktivitet innen fagområdet siste tiår, begrenset tilfang av litteratur
- Gjeldende behovsestimat bygger i stor grad på ett eller få studier
- Mange av disse studiene er gjort med dårlig tilvekst, med 'sære' dietter og under lite relevante produksjonsbetingelser
- Rapporterte P-behov 6-11 mg kg⁻¹
- Rapporterte Zn-behov 37-67 mg kg⁻¹



Mineral	Recommended Supplementation Practical diets	Minimum requirement Semi-purified diets
Ca	3 - 18 ^p	
P		6 ^j - 11 ⁿ
Mg		0.33 ^o 0.5 ^k -1.4 ^l _{RT}
Cu	5-10 ^a	-
Mn	10-15 ^b	7.5-10.5 ^c
Zn	>67 ^d	37-67 ^e
Fe	-	60-100 ^f
Se	0 ^h	0.2-04 ⁱ _{RT}
Co	-	-
Mo	-	-



Element	Species	Reference	Fish size interval (g)	Dietary protein source	Duration of study (weeks)	SGR*	Estimated requirement
P	A. salmon	Ketola, 1975	6,5-9,5	Soybean meal	5	1,1	0,6g available P 100g ⁻¹ diet
		Vielma & Lall, 1998	42-170	Casein, gluten, corn starch	15	1,3	0,83-0,93%
		Åsgård & Shearer, 1999	1,4-3,5	Casein, gelatin	9	1,5	0,9% available P at FCR 0,6
	Rainbow trout	Ogino & Takeda, 1978	1,2-3,5	Egg albumin	6	2,5	0,7-0,8% available P
		Ketola & Richmond, 1994	9-28	Casein, blood meal, albumin	10	1,6	0,54-0,61% non-phytin P
			35-105		15	1,1	
Zn	A. salmon	Maage & Julshamn, 1993a	40-150	Cod muscle	8	1,6	>67 mg kg ⁻¹ dry diet
		Maage & Julshamn, 1993b	0,15-1,5	Cod muscle	12	2,7	57-97 mg kg ⁻¹ dry diet
	Rainbow trout	Ogino & Yang, 1978	1,8-9,5	Egg albumin	8	3	15-30 mg kg ⁻¹
		Satoh et al., 1987	1,3-6,4	Egg albumin	12	1,9	20-49 mg kg ⁻¹

5g



P-mangel begrenser ikke vekst



Staining and photo: Synnøve Helland

Subkliniske effekter

- Det tar lang tid før subkliniske mangel-effekter på bein kommer til uttrykk i form av deformiteter
- Langtidseffekter på bein observert etter forbigående mangelperioder
- Tilvekst påvirkes ikke, annet enn i alvorlige tilfeller
- Hvilke andre fysiologiske/patologiske effekter er det av subklinisk mangel?
- Immunkompetanse, sårheling osv.
- Lite undersøkt

Dietary vitamin- mineral interactions that have been described in salmonids.

Interactive components	Interaction (-/0/+)	References
Vitamin C - Iron	+	Sandnes <i>et al.</i> 1990; Maage <i>et al.</i> 1990; Andersen <i>et al.</i> 1996; Andersen <i>et al.</i> 1998
Vitamin C – other minerals	-/+	Waagbø <i>et al.</i> 2000
Vitamin D - Calcium	+	Hayes <i>et al.</i> 1986
Vitamin D – Phosphorous	(+)	Vielma <i>et al.</i> 1999a
Vitamin E - Iron	0	Waagbø <i>et al.</i> 1993; Waagbø & Maage 1992
Vitamin E - Selenium	+ + 0	Poston <i>et al.</i> 1976; Bell <i>et al.</i> 1985; Maage & Waagbø 1990
Vitamin E - Zinc	0	Maage & Waagbø 1990
Pyridoxine – Iron	-	Albrektsen 1994

Faktorer som påvirker behov og utnyttelse

- Fiskens biologiske behov for mineraler påvirkes sannsynligvis av mange faktorer
 - Veksthastighet, livsstadium, overgang mellom livsfaser, preging, kritiske stadier
 - Lys, temperatur, vannkvalitet, produksjonsstrategi...
 - Sykdom? Vaksinebivirkninger?
 - Triploider
 - Resirkulering??
 - ...
- Slik informasjon etterspørres, men eksisterer i svært liten grad

Biological variation in mineral absorption

Apparent digestibility coefficients (ADC) for some elements in **82 full-sib family groups** of Atlantic salmon (Average weight 4,6 kg). (Modified after Thodesen et al, 2001a)

	Mean	SD	CV	Min	Max
ADC-P	40,4	6,4	15,8	23,9	54,8
ADC-Zn	37,9	6,7	17,7	18,3	51,3

Apparent digestibility coefficients (ADC) for some elements in **15 individual Atlantic salmon** (Average weight 1,7 kg). (Modified from Rydland, 1998)

	Mean	SD	CV	Min	Max
ADC-P	38,9	5,8	14,9	30,4	49,2
ADC-Zn	44,7	7,8	17,4	32	57,7

Faktoriell tilnærming for beregning av behov

- Shearer, 1991

$$C = (G + E - U) / (A/F)$$

- Forenklet modell

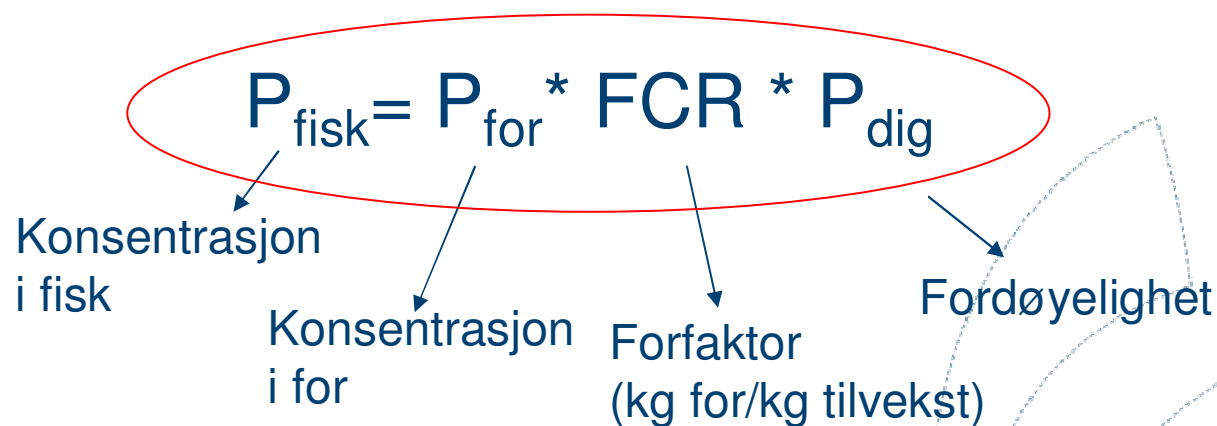
$$P_{\text{fisk}} = P_{\text{for}} * FCR * P_{\text{dig}}$$

Konsentrasjon i fisk

Konsentrasjon i for

Forfaktor (kg for/kg tilvekst)

Fordøyelighet



Forenklet modell anvendt i forhold til P-behov for laks

Dietary P content mg/kg (%)	Digestibility of P %	FCR (kg feed/ kg weight gain)	Available P mg/kg per kg weight gain
12 000 (1,2 %)	50	1	6000
12 000 (1,2 %)	40	0,7	3360

Fordøyelighet påvirkes av miljøfaktorer og teknisk forkvalitet

	<u>Constant environment</u>		<u>Variable environment</u>	
	Feed A	Feed B	Feed A	Feed B
P	36.9	29.7	27.7	22.7
Zn	31.3	24.7	18.7	19.0

Feed A: High water stability

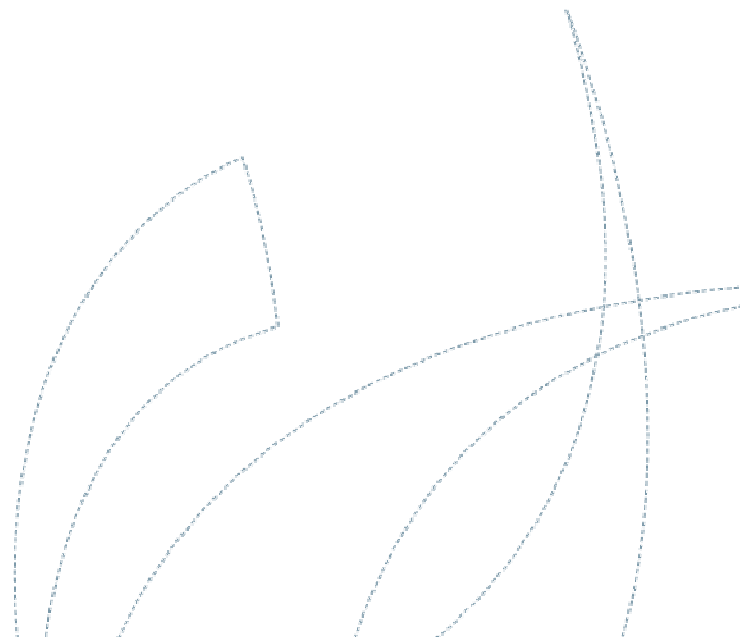
Feed B: Low water stability

Variable environment: Temperature and salinity fluctuations

Aas et al., 2011

Toksiske grenser

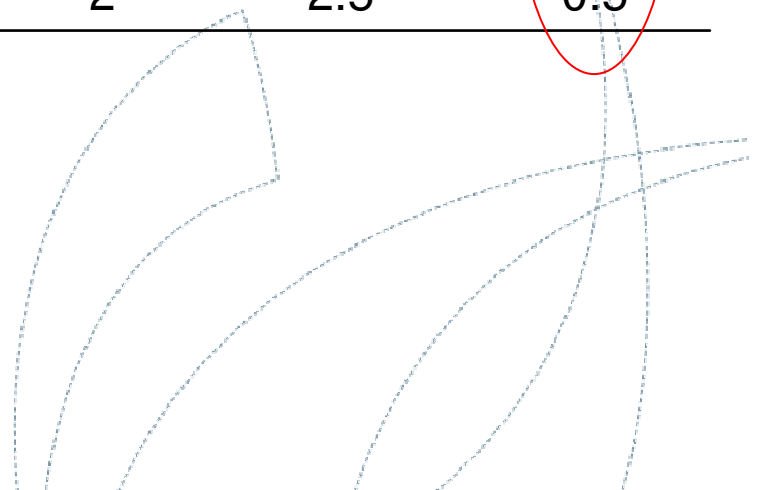
Øvre grenser er etablert for en rekke mineraler, men det er et stort behov for kunnskap om selen på grunn av betydelige overskridelser av øvre grenseverdi for selen i dagens fiskefôr.



Levels of essential trace elements in Norwegian commercial feed samples in 2009 (n=25, mean (min.-max.), as well as EU upper limits for supplementation

	Iron	Zinc	Copper	Manganese	Cobalt	Molybdenum	Selenium
Mean	180	168	10	42	0.36	0.84	1
Min.- Max.	(115- 248)	(110- 230)	(8-13)	(25-89)	(0.09- 0.89)	(0.42-1.4)	(0.42- 1.5)
Limit	750	200	25	100	2	2.5	0.5

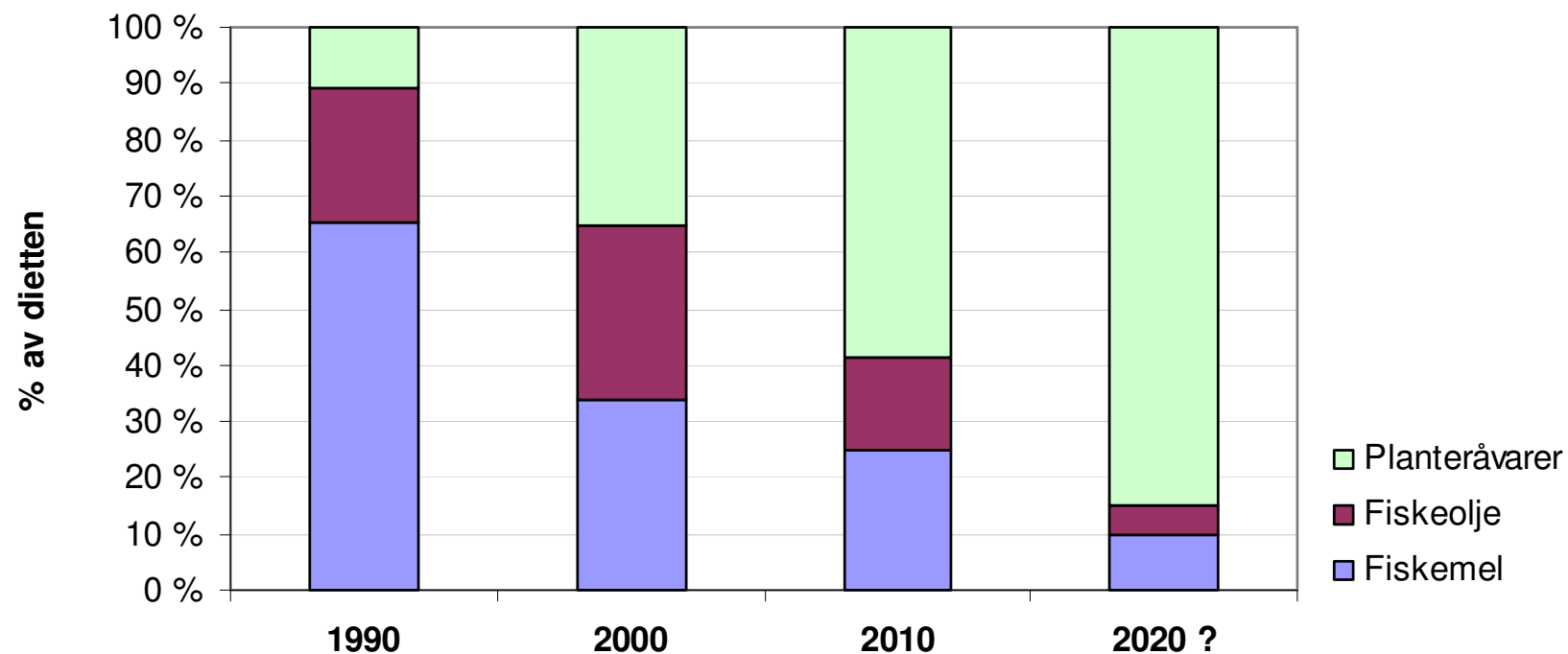
Source: Måge *et al.*, 2010



Plantefôrmidler

- Mange ulike råstoff, stor variasjon i egenskaper
- Inneholder generelt mindre makromineraler enn marine råstoff, kan inneholde mer sporelementer
- Utfordrende mht. makromineraler, spesielt P
 - P er bundet til fytat
 - Krever ekstra tilsetning
- Det foreligger ikke langtidsstudier av effekt på mineralisering/skjelettutvikling
- VKM (2009) nevner utfordringer knyttet til mineralisering, men angir ikke dette som en av risikofaktorene ved bruk av plantefôrmidler

Bruken av planteråvarer er kraftig økt de siste 20 år



Ytrestøyl m.fl. 2011



Marine råstoff

- Marine råstoff har vært en viktig kilde for fosfor og andre mineraler
- Bidraget går ned pga redusert fiskemelsandel
- Ny kunnskap viser stor variasjon i biotilgjengelighet av mineraler fra fiskemel
- Tilgjengelighet påvirkes av beininnhold i fiskemelet
- Det er mulig å øke tilgjengeligheten gjennom syrebehandling
- Utviklingsarbeid pågår: Hvordan bruke beinrikt restråstoff som P-kilde i fiskefor

Metodikk, behovsstudier

- Metoder for bestemmelse av behov er lite utviklet
 - Få studier er gjort i nyere tid, ingen på 2000-tallet
 - Bruk av nyere redskaper (molekylære verktøy) er fraværende
 - Det er ingen standardisering av tilnæringsmåte eller responsparametre
 - Studiene bygger på forsøk med lav tilvekst
- Tradisjonell metodikk gir minimumsbehov, hvordan komme derfra til praktiske anbefalinger?
- Hvordan tar vi høyde for den biologiske variasjonen?

Metodikk, bestemmelse av tilgjengelighet og opptak

- Bestemmelse av fordøyelighet i fôringsforsøk v.hj.a. indikator eneste dokumenterte metode
- Kan ikke brukes på liten fisk
- Fordøyelighet i sammensatte fôr versus fordøyelighet av fôringredienser er en utfordring metodemessig
- Mange faktorer kan påvirke resultatet, det er ingen kultur for (og ikke nok kunnskap nok til) å trekke disse inn i vurderingene
- Veldig få fordøyelighetstall er offentlig tilgjengelige!
- Molekylære analyser av markører for opptak: Under utvikling
- In vitro-metoder?
- Løselig P: Metode under utvikling

Metodikk, overvåkning av mineralstatus hos fisken

- Metodene er lite standardisert
- Helkroppsanalyser mest standardisert, og referansetall eksisterer
 - Referansetallene er gamle (1994), kanskje for gamle
 - Helkroppsanalyser lite egnet på stor fisk og alternativer er lite standardisert
- Andre analysetilnærminger i bruk, men gir tall som er vanskelig å sammenlikne mellom studier
 - Lite egnet for kommersielt bruk
 - Kan analyser av skjell bidra?
- Kjemiske analyser gir uansett et øyeblikksbilde, og forteller lite om dynamikken i mineralstatus

Metodikk, overvåkning av skjelettutvikling

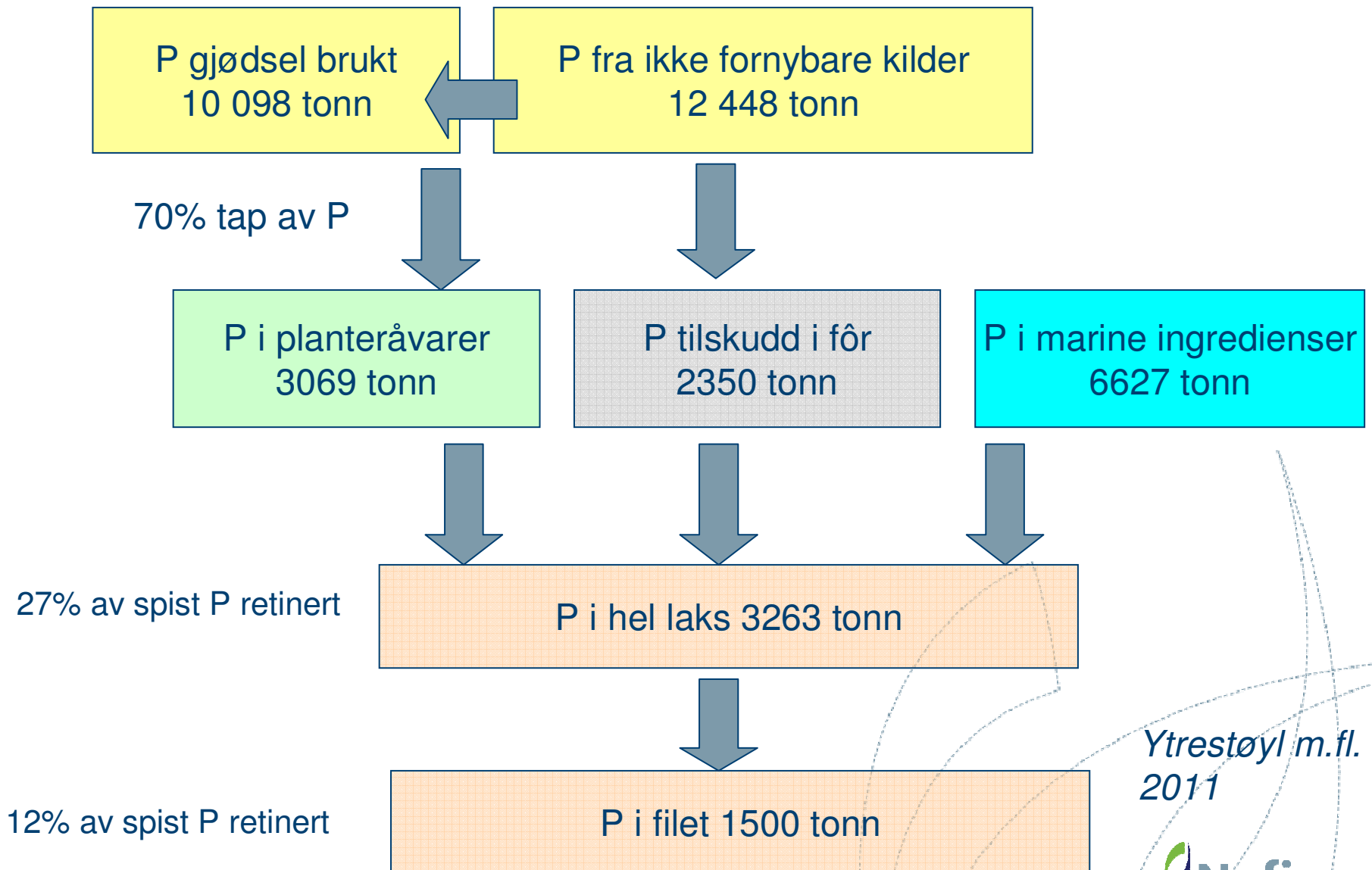
Røntgen mest brukt (men ikke mye brukt)

- Det eksisterer en del diagnostiske kriterier
 - I stor grad sen-effekter
 - Lite standardiserte kriterier
 - Kompetansen ligger i få miljøer
 - Ingen aktive overvåkningsprogram

Histologi, molekylære studier

- På vei inn, er tatt i bruk i forskningssammenheng
 - Arbeids- og kompetansekrevende metoder
 - Tidlig stadium av kunnskapsutvikling
 - Har potensiale til å bli praktiske verktøy

Fosforbudsjett for norsk laks 2010



Ytrestøyl m.fl.
2011