

Innfanging, avliving og tilrettelegging for etterbruk av rognkjeks - fra problem til ressurs: Forprosjekt

Sluttrapport for FHF-prosjekt 901235



Akvaplan-niva AS Rapport: 7706 -

This page is intentionally left blank

Akvaplan-niva AS

Rådgivning og forskning innen miljø og akvakultur

Org.nr: NO 937 375 158 MVA

Framsenteret

Postboks 6606 Langnes, 9296 Tromsø

Tlf: 77 75 03 00, Fax: 77 75 03 01

www.akvaplan.niva.no

**Rapporttittel / Report title**

Innfangning, avliving og tilrettelegging for etterbruk av rognkjeks – fra problem til ressurs: Forprosjekt

Forfatter(e) / Author(s)

Atle Foss
Ane Vigdisdatter Nytrø
Bjørn Roth

Akvaplan-niva rapport nr / report no

7706 - 1

Dato / Date

15.06.2017

Antall sider / No. of pages

27

Distribusjon / Distribution

Offentlig

Oppdragsgiver / Client

Fiskeri- og Havbruksnæringens Forskningsfond

Oppdragsg. referanse / Client's reference

FHF prosjektnummer 901235

Sammendrag / Summary

I dette forprosjektet har man gjennomført kontrollerte adferdsbaserte studier av lys- og fargepreferanser hos rognkjeks for å utvikle passive gjenfangstmetoder til bruk i kommersiell skala. Forsøk i laboratorieskala demonstrerte en høy gjenfangst ved bruk av blått lys som attraktant, men under kommersielle forhold oppnådde man ikke god gjenfangst ved bruk av de to prototype-fellene som ble utviklet i prosjektet

Hovedaktiviteten i prosjektet har vært å utvikle en slakteprosedyre som egner seg for industriell slakt av leppefisk og rognkjeks og som tilfredsstillende kravet om dyrevelferd og samtidig ivaretar kvalitet på produktet som mulig matvare. I prosjektet har man dokumentert sensitiviteten for strøm hos alle aktuelle arter og avdekket hvilke parametere (spenning/varighet av eksponering) som er nødvendig for å bedøve og avlive renseskjeks i henhold til regelverk.

Prosjektleder / Project manager

Handwritten signature of Atle Foss in blue ink.

Kvalitetskontroll / Quality control

Handwritten signature of Atle Foss in blue ink.

© 2016 Akvaplan-niva AS. Rapporten kan kun kopieres i sin helhet. Kopiering av deler av rapporten (tekstutsnitt, figurer, tabeller, konklusjoner, osv.) eller gjengivelse på annen måte, er kun tillatt etter skriftlig samtykke fra Akvaplan-niva AS.

INNHOLDSFORTEGNELSE

1 IDENTIFISERING AV ATFERDSMESSIGE PREFERANSER I FORHOLD TIL FARGE BRUKT SOM ATTRAKTANT HOS ROGNKJEKS.....	3
1.1 Materiale og metode	3
1.2 Resultater	5
2 IDENTIFISERING AV ATFERDSMESSIGE PREFERANSER I FORHOLD TIL LYS BRUKT SOM ATTRAKTANT HOS ROGNKJEKS.....	9
2.1 Materiale og metode	9
2.2 Resultater	11
3 ELEKTRISK BEDØVING OG AVLIVING AV RENSEFISK	14
3.1 Material og metode	14
3.2 Resultater	15
4 DISKUSJON	19
5 KONKLUSJON.....	21
6 REFERANSER.....	23

Forord

Å få til en effektiv metode for innfangning av rognkjeks har vist seg å være en betydelig utfordring, spesielt ettersom arten i større grad blir pelagisk med økende størrelse. Per dags dato har ikke forskjellige manuelle gjenfangstmetoder vært beskrevet som vellykket for stor rognkjeks, og eksisterende metoder har vist seg å være svært arbeidskrevende.

Videre er rognkjeks en ny art i oppdrett og lite tilpasset de slaktemetodene som i dag er utviklet for ørret eller laks, på grunn av kroppsfasong, et tykt, beskyttende brusklag og antageligvis også en høyere kuldetoleranse enn atlantisk laks. En livsstrategi som hos hannfisken medfører stor risiko for kortvarig tørrlegging i forbindelse med vokting av rogn tilsier også at arten kan ha utviklet en viss toleranse for hypoksi. Sammen gjør disse faktorene rognkjeks til en utfordrende art i slaktesammenheng.

I dette prosjektet har man testet ut bruk av lys og farge som naturlige attraktanter, med det mål for øyet å utvikle en passiv innfangningsmetode for rognkjeks i merder. Forsøk gjort i laboratorieforsøk har gitt svært lovende resultater, med høy gjenfangst og tydelig reaksjon på de stimuli fisken har blitt eksponert for, men det har ikke lyktes å utvikle en metode som virker i kommersiell sammenheng.

Hovedprioriteten i prosjektet har vært å utvikle en protokoll for avlivning av rensefisk i kommersiell- og semikommersiell skala. Gjennom flere forsøk har man dokumentert hvilke kriterier (strømspanning, eksponeringstid) som gjelder for at leppefisk og rognkjeks skal kunne bedøves og avlives humannt etter gjeldende regelverk.



Figur 1: Nysgjerrige rognkjeks hviler på fôrslanger i en kommersiell laksemerd.

1 Identifisering av atferdsmessige preferanser i forhold til farge brukt som attraktant hos rognkjeks

1.1 Materiale og metode

Rognkjeksene som ble benyttet i forsøket var produsert ved Senja Akvakultursenter, Rubbestad i Tranøy kommune under kommersielle forhold i kar frem til forsøksstart. Fisken ble holdt på oppvarmet inntaksvann før- og under forsøksperioden. Snitttemperatur i forsøksperioden var 8.1°C.

Fargepreferanser ble undersøkt hos to replikate grupper (n = 35 per gruppe) av juvenil rognkjeks ved Akvaplan-nivas forskningsstasjon på Kraknes i Tromsø kommune i perioden 14.04.16 - 22.04.16. Fisk ble akklimatisert over en syvdagersperiode før forsøksstart. Fotoperiode benyttet i forsøket var 8:16 (natt/dag) og fisken ble sultet i 24 timer før gjennomføring av forsøk. Dette ble gjort da det der grunn til å anta at tiltrekningsevnen av farge som attraktant er knyttet til farge på potensielle byttedyr under ville forhold.

All fisk ble veid- og lengdemålt før forsøksstart. Snittvekt for fisken benyttet i forsøket var hhv. 30.2 ± 6.0 g og for gruppe en og 32.3 ± 6.3 g for gruppe to. Snittlengde for fisk i de to gruppene var hhv. 8.7 ± 0.8 og 9.1 ± 0.7 cm for gruppe 1 og 2.

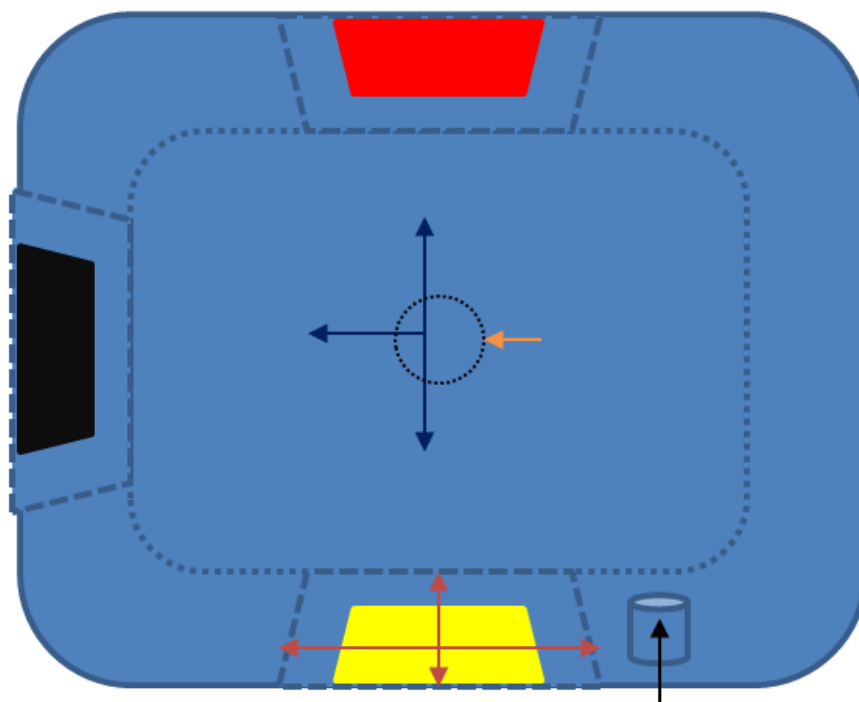
Dokumentasjon av atferdsmessige preferanser mellom farger ble gjennomført ved bruk av infrarødt kamera. Med utgangspunkt i innledende fargeforsøk ble ett utvalg farger benyttet i videre hovedforsøk. Utprøvde fargekombinasjoner i hovedforsøket vist i tabell 1. Andre farger benyttet i pilot inkluderte fluoriserende oransje og grønn, men disse ble eliminert på grunn av liten- eller ingen interesse hos rognkjeksene i innledende forsøk. Tre farger ble utprøvd samtidig.

Tabell 1. Utprøvde fargekombinasjoner.

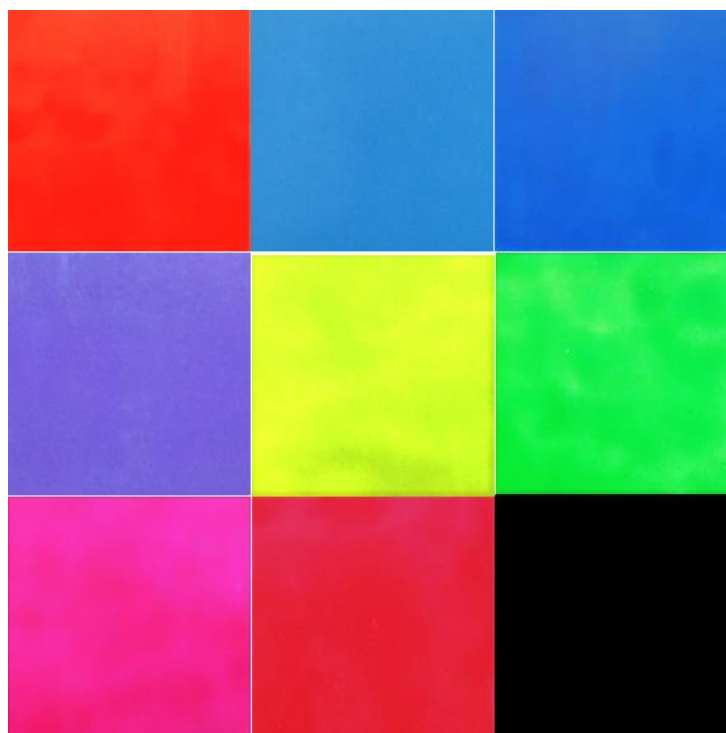
Kombinasjon	Farge		
A	Lys blå	Lilla	Blå
B	Mørk blå	Rosa	Fluorblå
C	Gul	Svart	Rød

Resultater fra innledende pilotforsøk tilsa at rognkjeksene benyttet karveggen aktivt som hvilested, samt at rognkjeks i kommersielle merder med laks ikke vil ha tilsvarende "hvilefasiliteter" som karveggen gir. For å fjerne muligheten for å suge seg fast til karveggen ble det derfor benyttet en finmasket not som dekket karveggen. Da rognkjeksene benyttet i forsøket i stor grad ble oppfattet som pelagisk virket det ikke som om dette hadde noen negativ påvirkning på fisken som sådan.

Plasseringen av de tre platene i karet var tilfeldig for å redusere eventuell påvirkning av plassering av fôringsautomat, vanninnløp og lysforhold, men hver fargekombinasjon ble utprøvd i to replikate grupper av fisk. Fôr var ikke tilgjengelig for fisken i perioden fargene ble utprøvd.



Figur 2. Illustrasjon av oppsett i kar. Stiplede linjer og røde piler viser område for telling av fisk i tilknytning til farget overflate (15 cm fra den fargede overflaten i x-, y- og z-akse. Blå piler indikerer plassering av infrarøde kamera. Oransje og sort pil viser plassering av hhv. utløp og innløp i karet. Plassering av fargeoverflate var randomisert mellom forsøksgrupper.



Figur 3. Fotografi av utprøvde farger. Mellomblå og mørk blå ikke vist. Fra toppen: Fluoriserende oransje, lys blå, fluoriserende blå, lilla, fluoriserende gult, fluoriserende grønt, rosa, rødt og sort.

Antall rognkjeks ble dokumentert innenfor 15 cm avstand fra overflate- og i ytterkant av de fargede platene. For å avdekke tilvenningseffekter ble adferd målt hyppig like etter utsett. Tiltrekningsadferd ble målt ved å telle antall fisk innenfor det avmålte området ved 0, 5 og 10 sekunder etter hvert satte måletidspunkt. Første måling ble gjort 5 minutter etter utsett av platene. Deretter ble adferd dokumentert etter en time, åtte timer og 24 timer etter utsett av platene.

1.2 Resultater

Resultater fra adferdsforsøk indikerer et betydelig potensiale for bruk av farge som attraktant for rognkjeks. Særlig blå, mørk blå og fluorblå hadde en klar tiltrekningseffekt på rognkjeks (figur 9), og fisk ble observert svømmende frem og tilbake, og snudde for å svømme foran en og samme fargeplate gjentatte ganger (figur 4). Kun i noen få tilfeller valgte rognkjeks å benytte platen som festeoverflate. Lys blå skapte signifikant lavere interesse hos rognkjeks enn fluor-, mellom- og mørkeblå.

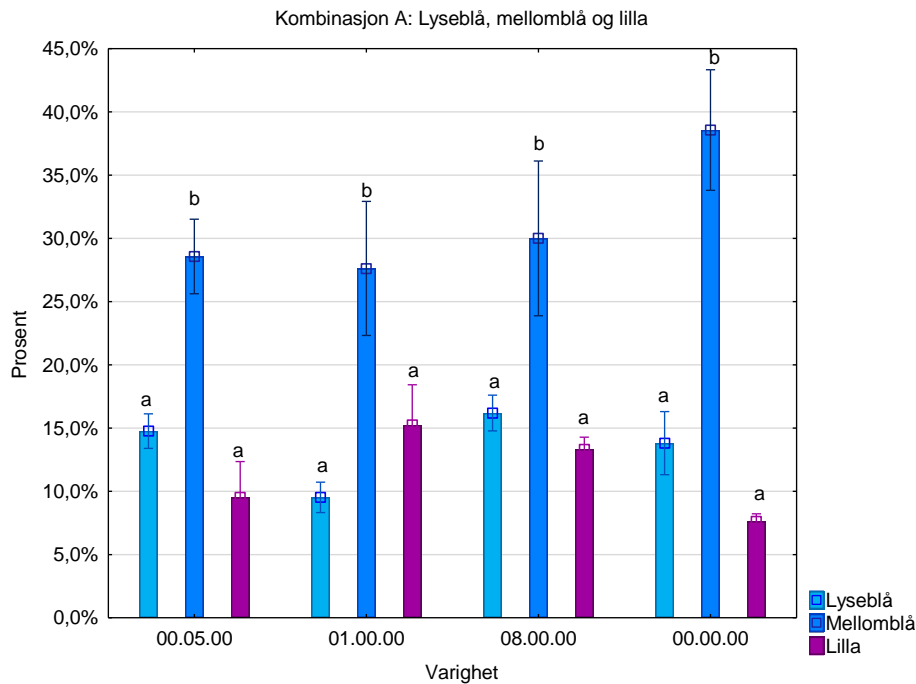
Farger som opprinnelig har blitt observert å være av interesse for rognkjeks i merder m.m. som rødt, orange og rosa hadde sammenlignet med nyanser av blått ingen interesse for rognkjeks ($p < 0.05$, figur 5, 6 og 8). Mellomblå og fluoriserende blå var de klart mest foretrukne overflatene hvor opptil 40% av fisken i karet oppholdt seg innenfor fargeplatens radius på måletidspunktene.

Antall fisk innenfor platens radius ble målt på samme tidspunkt for alle plater i karet ved bruk av kamera. Det var liten endring i fargepreferanse gjennom 24 timer – hvor mellomblå var signifikant mest populær både ved første tagging etter 5 minutter og etter 24 timer. For mellomblå og gul så det ut til å være en læringseffekt ved at flere fisk hadde preferanse for disse fargene over tid, vist ved en økning i prosentandelen rognkjeks som oppholdt seg innenfor platens avmålte radius (figur 8). Ved en- og åtte timer etter utsett av plater var det ingen signifikant forskjell mellom mørk-, mellom- og fluoriserende blå (figur 9). Videre vakte også gult en viss interesse fremfor rosa-, lilla-, sort og rødt, men av primærfargene var blått klart mest interessant (figur 10).

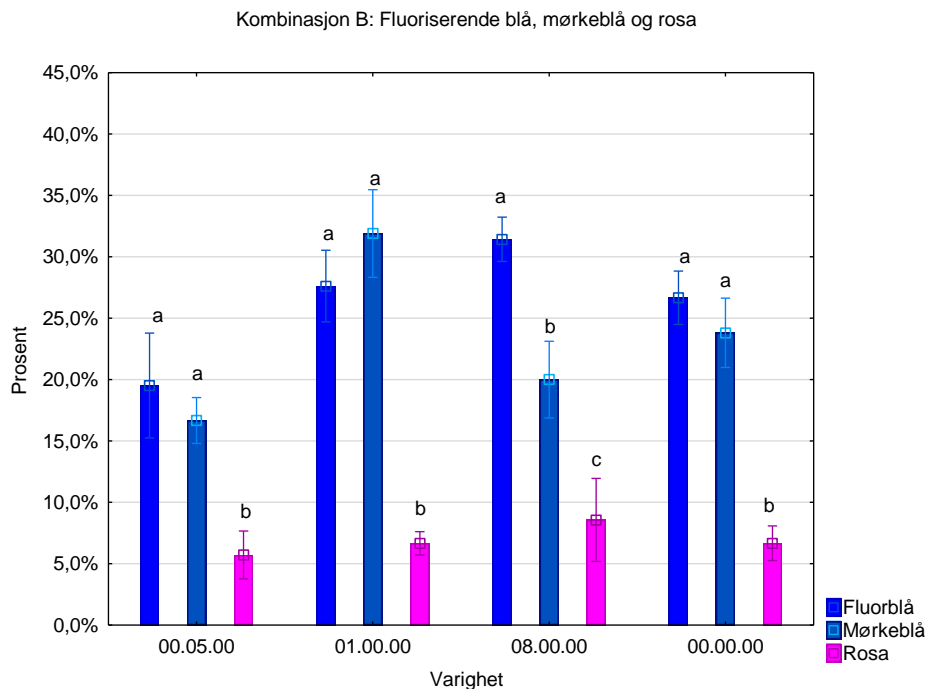
Ved videre arbeid med farger som attraktant for rognkjeks sees det derfor som klart mest hensiktsmessig å arbeide med nyanser av blått. Neste steg vil være utnyttelse av farge i kombinasjon av lys som attraktant for å øke effektiviteten av gjengangsmetode og for å etterligne fluoriserende ribbemaneter – en av rognkjeksens favorittnæringskilder til havs.



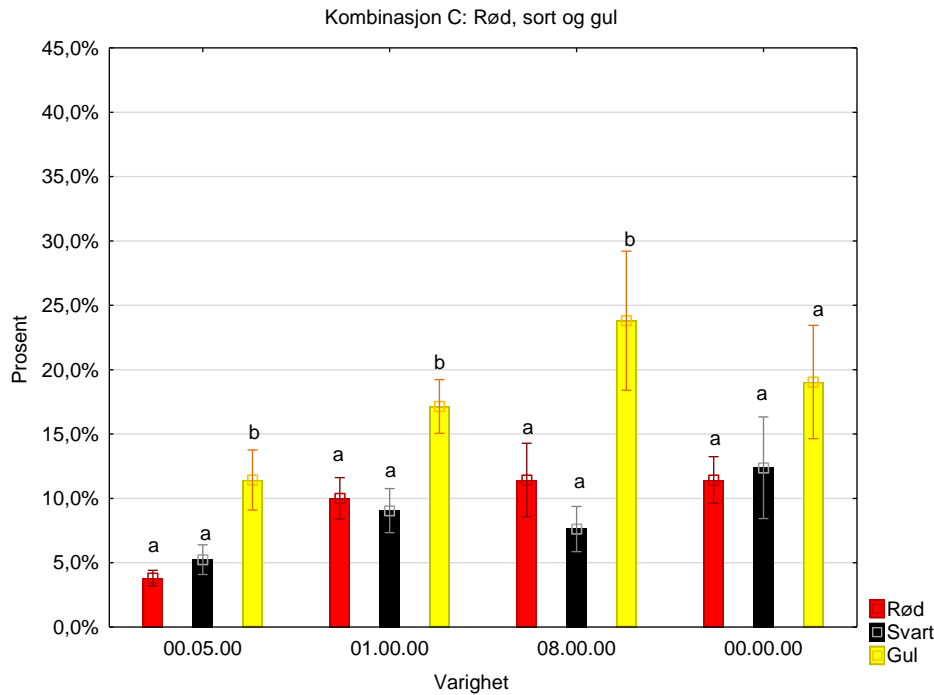
Figur 4. Observasjon av preferanser mellom hhv. lys blå, rødt og mørkeblå hos rognkjeks.



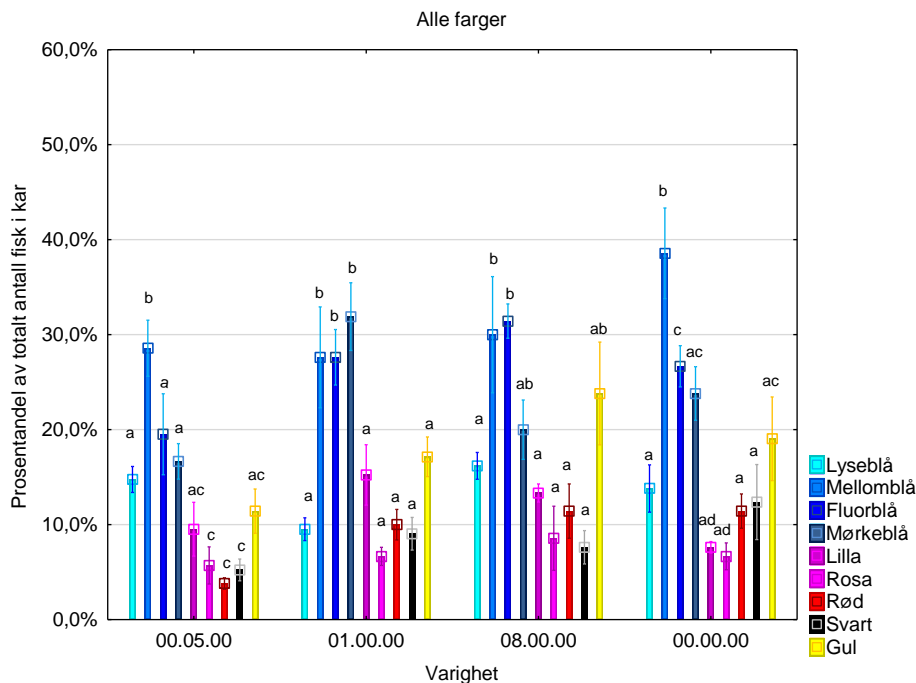
Figur 5: Undersøkelse av forskjeller i fargepreferanser mellom forsøksgrupper etter fem minutter, en time, åtte timer og 24 timer. Histogram som viser fargepreferanser kombinert for forsøksgruppe A: Lys blå, mellomblå og lilla. Forsøk gjennomført i replikat. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjellige P-verdier fra Student-Newman-Keuls test ($p < 0.05$) for fargepreferanse, barer indikerer std. error of mean.



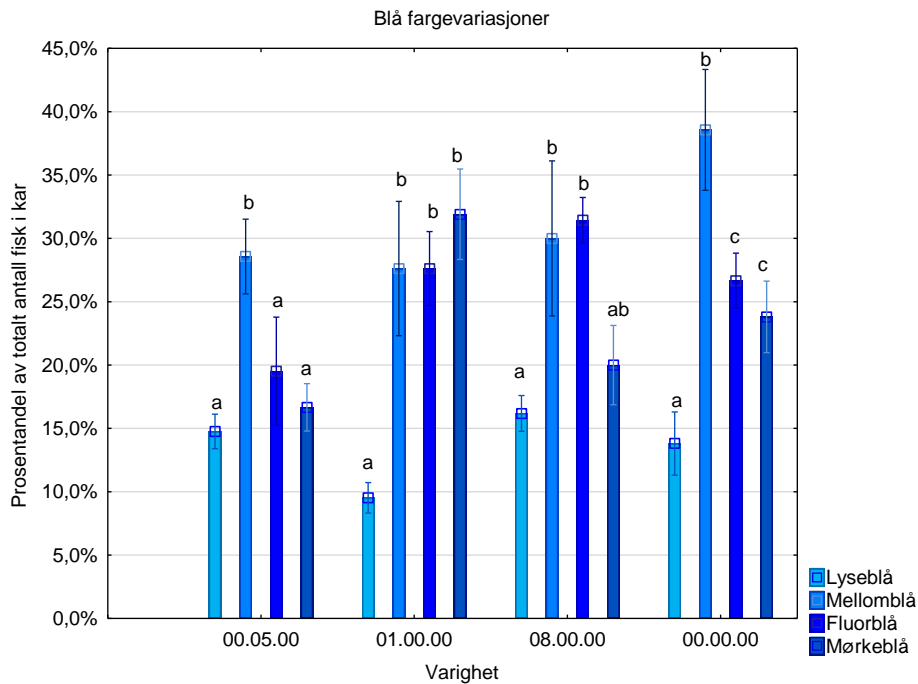
Figur 6: Undersøkelse av forskjeller i fargepreferanser mellom forsøksgrupper etter fem minutter, en time, åtte timer og 24 timer. Histogram som viser fargepreferanser kombinert for forsøksgruppe B: Mørk blå, fluoriserende blå og rosa. Forsøk gjennomført i replikat. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjellige P-verdier fra Student-Newman-Keuls test ($p < 0.05$) for fargepreferanse, barer indikerer std. error of mean.



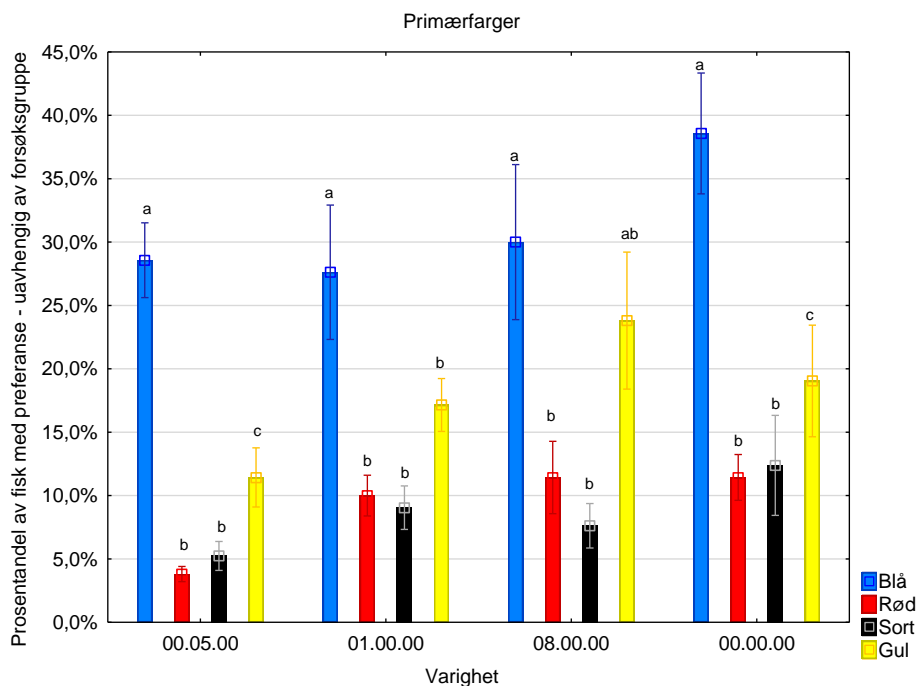
Figur 7: Undersøkelse av forskjeller i fargepreferanser mellom forsøksgrupper etter fem minutter, en time, åtte timer og 24 timer. Histogram som viser fargepreferanser kombinert for forsøksgruppe C: Gul, rød og sort. Forsøk gjennomført i replikat. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjellige P-verdier fra Student-Newman-Keuls test ($p < 0.05$) for fargepreferanse, barer indikerer std. error of mean.



Figur 8: Undersøkelse av forskjeller i fargepreferanser mellom forsøksgrupper etter fem minutter, en time, åtte timer og 24 timer. Histogram som viser fargepreferanser kombinert for alle tre forsøksgrupper kombinert. Tre farger ble undersøkt samtidig, forsøk gjennomført i replikat, totalt antall målepunkter per tidspunkt = 6. $N=35$. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjellige P-verdier fra Student-Newman-Keuls test for fargepreferanser, barer indikerer std. error of mean.



Figur 9: Undersøkelse av forskjeller i fargepreferanser mellom forsøksgrupper etter fem minutter, en time, åtte timer og 24 timer. Histogram som viser fargepreferanser for nyanser av blått kombinert for alle tre forsøksgrupper kombinert. Tre farger ble undersøkt samtidig, forsøk gjennomført i replikat, totalt antall målepunkter per tidspunkt = 6. N=35. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjellige P-verdier fra Student-Newman-Keuls test for fargepreferanser, barer indikerer std. error of mean.



Figur 10: Undersøkelse av forskjeller i fargepreferanser mellom forsøksgrupper etter fem minutter, en time, åtte timer og 24 timer. Histogram som viser preferanser for primærfarger (Blå, rød og gul, samt sort) kombinert for alle tre forsøksgrupper. Tre farger ble undersøkt samtidig, forsøk gjennomført i replikat, totalt antall målepunkter per tidspunkt = 6. N=35. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjellige P-verdier fra Student-Newman-Keuls test for fargepreferanser, barer indikerer std. error of mean.

2 Identifisering av atferdsmessige preferanser i forhold til lys brukt som attraktant hos rognkjeks

Å få til en effektiv metode for innfangning av rognkjeks har vist seg å være en betydelig utfordring, spesielt ettersom arten i større grad blir pelagisk med økende størrelse. Per dags dato har ikke forskjellige manuelle gjenfangstmetoder vært beskrevet som vellykket for stor rognkjeks, og eksisterende metoder har vist seg å være arbeidskrevende.

En av den pelagiske rognkjeksens hovednæringskilder i Barentshavet er glassmaneten *Beroe cucumis* (Welch, et al., 2005). Disse manetene er bioluminisente og iridisente. Artens utbredelsesområde 0-1000 m (Angel, et al., 1982) passer godt med den voksne rognkjeksens leveområde på ned til 800 meters dyp, og understreker rognkjeksens rolle som visuell predator. Resultater fra upubliserede forsøk gjennomført av Havforskningsinstituttet (Bjelland, pers. komm.) indikerte også at fiolett lyskilde i merden økte aktiviteten hos rognkjeks, men også at arten er mest mottagelig for grønne bølgelengder av lys. Vi har derfor undersøkt effekten av forskjellige tilgjengelige lyskilder som attraktant i kontrollerte små-skala forsøk ved Akvaplan-nivas forskningsstasjon på Kraknes i Tromsø.

Til forsøkene ble et utvalg modifiserte teiner fra OK Marine (fig. 1) benyttet. Forskjellige lyskilder ble testet i eksperimenter som ble utført i tre faser:

2.1 Materiale og metode

Eksp. 1 (pilot) Potensiale til lys som attraktant.

To kar (1500 l) med 40 fisk (40-60 g) i hvert kar ble benyttet til pilotforsøket. Fisken som inngikk i forsøk var på forhånd tilpasset omvendt fotoperiode, slik at karene var i mørke på dagtid når forsøkene skulle gjennomføres. Dette ble gjort for å optimalisere effekten av de forskjellige attraktantene ved å prøve dem ut i mørke. Glowsticks i fargene blå, grønn, rød, hvit, rosa, lilla oransje og gul ble testet i en lystett felle (kun synlig lys fra utsiden i feller). Ut fra resultater i dette innledende forsøket ble fargene som oppnådde best effekt alene (blå, grønn, rød og gul) undersøkt videre i kombinasjonsbruk med en blinkende attraktant. Den blinkende attraktanten hadde samme farge som glowsticken som ble benyttet i hvert forsøk.

Fellen ble plassert i fiskekaret (hvert kar eksponert for felle m/lys kun en gang pr. dag) i en periode på 60 minutter uten annet lys enn attraktantene (lystett rom). Deretter ble antall fisk i fellen talt opp etter hhv. 10, 30 og 60 minutter. Rekkefølgen på forsøkene (fargene) var randomisert.

Eksp. 2 Bruk av LED-lys

Samme prosedyre som eksp. 1, men med bruk av små LED-lys i forskjellige farger. Seks kar med 36 fisk/kar ble benyttet. Basert på resultater fra eksp. 1. ble fargene blå, grønn, lilla og hvit testet. For fargene med best effekt i innledende forsøk ble bølgelengden på det fargede lyset målt. Bølgelengde på LED-lysene var hhv. 470, 523 og 627 nm for blått, grønt og rødt lys.

Eksp. 3 Bruk av blått lys

Med utgangspunkt i resultater fra de innledende to forsøke kom det klart frem at blått var desidert mest velegnet til bruk som attraktant. Samme fremgangsmåte som i eksp. 1 og 2 ble derfor gjentatt, men her ble det kun brukt variasjoner av blått lys fra de respektive lyskildene (glowsticks, LED-lys og blinkende agn).

I første del av forsøket ble blå led-lys utprøvd, men med dempet lysstyrke sammenlignet med i forsøk nummer 2. Dette ble gjort da det var mistanke om at lyset blendet fisken når den svømte inn i teina, samt at lyset fra led'en i den lystette teinen fungerte som en lyskaster ut av kalvene, og førte til at blått lys lyste opp karveggen utenfor teina og dermed tiltrakk seg fisk i dette området, i stedet for å lure fisken inn kalven. Av samme årsak ble også plasseringen av led-lysene endret i løpet av forsøket. Den beste kombinasjonen viste seg å være å benytte en lyskilde vendt inn i teina (kontra utover, som først utprøvd), og en lyskilde i det innerste oppsamlingskaret i teina. Dette førte til at rognkjeksene svømte helt inn i det innerste kammerset i teina.

Fellen ble også noe modifisert underveis: de lystette panelene ble i noen av forsøkene fjernet, slik at teinen ikke var lystett i alle forsøkene, samt at fargen på noen av panelene ble endret fra sort til blå for å intensivere effekten av fargen inne i teina bak kalvene. Plasseringen av den ytterste lyskilden i teina førte dermed til at det blå panelet på motstående side av kalven ble lyst opp av attraktanten. I andre del av forsøket ble PVC-duken som dekket hele teinen fjernet, men tre flater ble dekket med PVC-duk for å skjerme/dempe lyskilden (se fig. 11 og 12). Kalvene eller arealet rundt kalvene ble ikke tildekt. I forbindelse med disse områdene disse ble fisken observert å stå og "stange" i nettveggen på utsiden.



Fig. 11 Modifisert krepseteine (åpen) til bruk i forsøk

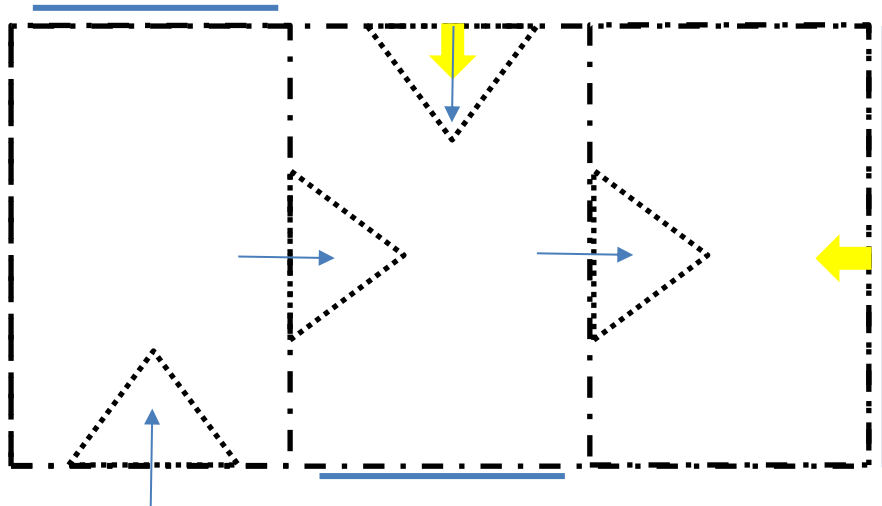


Fig 12. Piler indikerer plassering av lyskilder i teina, blå felt indikerer plassering av blå duk i teina.

2.2 Resultater

Pilotforsøket med glowsticks viste at rødt og gult lys ga liten eller ingen gjenfangst (fig. 13), og disse ble eliminert fra oppfølgingsforsøkene. Blått lys ga nesten 50% gjenfangst, mens grønt lys ga litt over 20%. I eksperiment 2, hvor glowsticks ble byttet ut med LED-lys, fikk man i snitt 55% gjenfangst ved bruk av blått lys, mens grønt, lilla og hvitt alle ga i overkant av 20% gjenfangst (fig. 14). I hovedforsøket ble det dermed fokusert på blått lys. Det ble oppnådd over 70% gjenfangst i både lukket og åpen felle ved bruk av LED-lys (fig. 15). Gjenfangsten ved bruk av blå glowsticks var hhv. 50 og 60% i lukket og åpen felle.

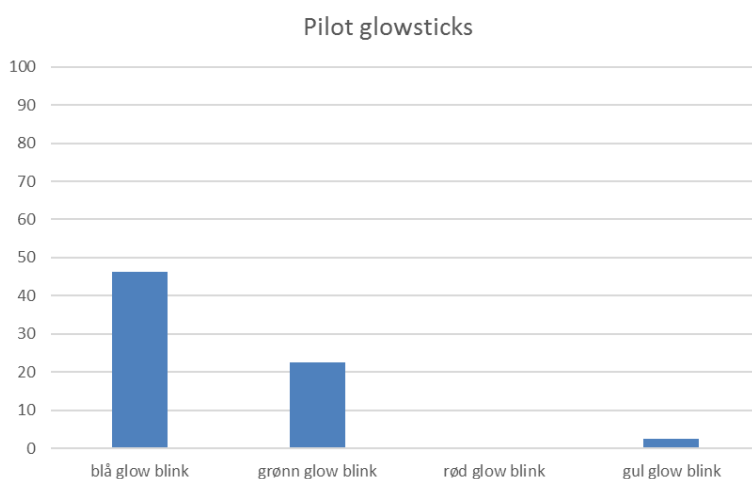


Fig. 13. Gjenfangst (%) av fisk i 1500 l kar ved bruk av glowsticks som attraktant i lukket felle m/åpne kalver.

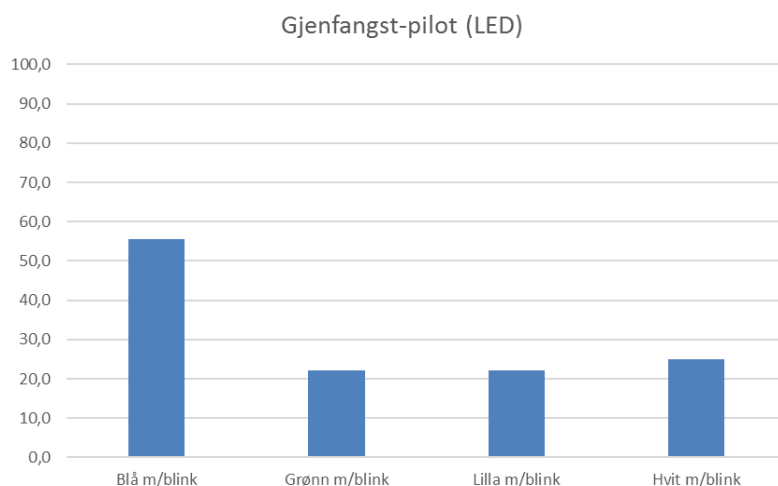


Fig. 14. Gjenfangst (%) av fisk i 1500 l kar ved bruk av LED-lys som attraktant i lukket felle m/åpne kalver.

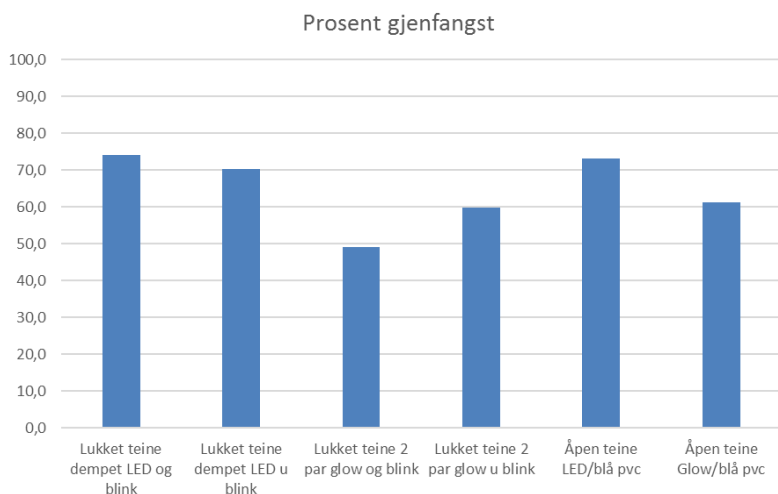


Fig. 15. Gjenfangst (%) av fisk i 1500 l kar ved bruk av blått lys som attraktant i lukket og åpen felle m/åpne kalver.

Prototype for kommersiell gjenfangst

Forsøkene som ble utført viste tydelig at blått lys tiltrekker rognkjeks. I de fleste forsøk som ble gjort svømte over 90% av den fisken som gikk i fellen inn i løpet av de første 20 min. Vi så dermed for oss en løsning i kommersiell skala hvor utfisking kan foregå flere steder i en merd over korte tidsrom heller enn at man har en stor enhet som skal virke over lang tid. Sistnevnte vil, dersom det innebærer oppsamling av en stor biomasse, være i faresonen for mangel på oksygen, samt at heving av en slik enhet vil innebære at fisk står i fare for å bli skadet p.g.a. trenging.

Prototype 1 var en forlenget versjon av teinen som ble brukt i laboratorieforsøkene (Fig. 16). Teinen ble kledd i blå PVC-duk og det ble installert 3 LED-lys inne i teinen. Forsøk med gjenfangst i merd ble utført 29. november 2016. Teinen ble senket v.h.a. kran i merd i nærheten av rensefisk-skjul på 4-5 m dyp etter mørkets frembrudd og ble hengende i en

time. Dette ble gjentatt på et senere tidspunkt samme natt. Det ble også gjort forsøk med en svakere LED-lyskilde, men blå farge ble benyttet i begge tilfeller. Det ble kun fanget 3 fisk i hvert forsøk.



Fig. 16. Prototype-teine for utprøving av gjenfangst av rognkjeks i merd.

Ettersom man oppnådde svært lav fangst ble teinen prøvd i lab-skala på nytt. Fisken som noen måneder tidligere hadde respondert kraftig på blått lys var nå helt uinteresserte. Nærmest ved en tilfældighet prøvde man et skiftende lysregime, hvor LED-lysene skiftet fra blått, til hvitt, til grønt, gult osv. Dette ga helt uventet en sterk reaksjon hos fisken, og igjen ble fellen fylt med fisk i løpet av kort tid. Det ble besluttet å lage en ny prototype med runde kanter (notpose) for å forhindre at man risikerte ødelagt merd-vegg ved evt. tap av teinen, og i januar 2017 ble den nye prototypen (fig. 17) testet ved anlegg i Troms.



Fig. 17. Prototype-felle for utprøving av gjenfangst av rognkjeks i merd. Notpose kledd med barkduk og med innvendige LED-lys.

Den nye prototypen ble utplassert på samme måte som tidligere, i nærheten av skjul hvor det var mye fisk til stede, og med et nytt, skiftende lysregime. Vi måtte dessverre konkludere med at det ikke ble noen fangst. For sikkerhets skyld ble utstyret testet i Sør-Norge også, men med samme resultat. Vi konkluderer disse pilot-eksperimentene med at lys helt klart har en effekt og kan spille en rolle som attraktant under gitte forutsetninger, men at det ikke lyktes oss å omsette dette til en kommersiell metode i dette forstudiet.

3 Elektrisk bedøving og avliving av renseskjeks

3.1 Material og metode

Gjennom høsten 2016 ble det gjennomført 7 delforsøk med elektrisk bedøving av renseskjeks-artene Berggyllt, Grønngyllt, Gressgyllt og Rognkjeks. Formålet med forsøkene var i første runde å avklare hvilke parametere som er nødvendig for å bedøve den enkelte art, 2) hvordan fisken reagerer under kommersielle forhold og 3) hvilke metoder som er nødvendig for å sikre human avliving. Metoder benyttet var systemer som brukes på slakteri og ombord på destruksjonsbåter. Alle forsøkene var godkjent av forsøksdyrutvalget. Tid for oppvåkning før terminering med slag til hode ble satt til 6 minutter.

Elbedøving på slakteri

Formålet med delforsøkene var å dokumentere hvorvidt disse artene kunne bedøves innen 0.5 sekund ved eksponering for kommersielle laksebedøvere med 105 V, 100 HZ, AC +DC. Oppsettet var i henhold til Lamboij et al. (2010), hvor fisken ble plassert mellom 2 elektroder koblet til et styreskap fra Stansas elektrobedøver (Seaside A/S, Stranda). Eksponeringstiden kunne kontrolleres gjennom et tidsrelé. Selve forsøket ble gjennomført i to trinn. Første trinn var at fisken ble eksponert for 0.5 s med strøm. Etter eksponering ble fiskens adferd dokumentert enten ved 1) tilstedeværelse av epilepsianfall, noe som indikerer bevisstløshet eller 2) fluktespons som viser at fisken ikke var bedøvet. Umiddelbart etter en hadde stadfestet fiskens respons ble fisken eksponert for ytterligere 5 sekunder AC+DC. Tid før oppvåkning ble målt i henhold til Roth et al. (2003) for å avklare hvor lenge den enkelte art forble bedøvet. Fisken ble deretter terminert ved slag i hodet ved tegn til oppvåkning eller etter 6 minutter etter eksponering.

Elbedøving om bord på destruksjonsbåt

For elbedøving om bord på destruksjonsbåter, var det 2 hovedprinsipper som ble testet. Det første var tørrbedøving under samme prinsipp som for laksebedøvere, men hvor elektriske parametere er lik nettspenning; sinusoidal 220 V, 50 HZ, AC. Andre metoden var bedøving i sjøvann i henhold til spesifikasjoner til Hordafør AS sin fartøyer, hvor fisken ble eksponert for elektriske feltstyrker tilsvarende 322 V/m i sjøvann med sinusoidal, 50 Hz, AC. I likhet med testing av elbedøving på slakteri, var første fasen å se hvorvidt fisken ble bedøvet innen 0.5 s ved tørrbedøving og innen 1 s i vann, etterfulgt av en 5 sekunders strømeksponering for tørrbedøving og 3 sekunder i sjøvann. Dette for å simulere kommersielle praksiser. I motsetning tid tidligere forsøk, hvor fisk normalt blir lagt inn i tørrbedøvingsenheten i liggende tilstand, ble rognkjeks også lagt inn i stående posisjon d.v.s. med sugekoppen festet i hovedmetallet (elektrode), mens den hengende elektroden var i kontakt med fronten av hodet til rognkjeks (Fig. 18). Dette for å sikre god kontakt mot hodet under utprøving.



Fig. 18. Rognkjeks eksponert for strøm i tørrbedøver.

Human avliving av renseskjeks.

For å kunne definere en human avlivingsmetode for de ulike arter ble det testet ulike fremgangsmåter i kombinasjon med elbedøving. Godkjente avlivingsmetoder for fisk som ikke er ved bevissthet er 1) bløgging; 2) kverning. I tillegg ville en undersøke om en kunne avlive fisk ved å øke strømeksposering til 30 sekunder. Av arter undersøkt var kun Berggyllt som er aktuell å bløgge m.h.t. til velferd og kvalitet ettersom denne arten vil kunne følge laksens slakteprosess. Foruten bløgging ble all fisk filetert for å undersøke skader i rygg og filét.

3.2 Resultater

Leppefisk

Som vist i tabell 2, demonstrerte forsøkene med kommersielle elbedøvere at 105 V, 100 HZ AC+DC var tilfredsstillende for å bedøve leppefisk. Samtlige fisk, med unntak av 1 berggyllt som ble eksponert for 0.5 til 1 s med strøm viste tegn til bevisstløshet ved å ha et epileptisk anfall med toniske kramper og fravær av basale reflekser. Imidlertid hadde fisken en rask oppvåkningstid, så i tilfeller hvor en brukte litt tid til å evaluere fisken, kunne en observere at fisken gjenvant bevisstheten innen 20-30 s etter eksponering. Det var derfor viktig å gjennomføre sekundærfasen med 5 sekunder strømeksposering.

Tabell 2: Sannsynlighet for bedøvelse for fisk eksponert for kommersielle laksebedøvere 105 V, 100 Hz, AC+DC. Verdier er oppgitt i p (n)

	Eksponeringstid (s)			
	0.5 s	1 s	5 s	30 s
Berggyllt	0.90 (10)	1.00 (7)	1.00 (57)	1.00 (21)
Grønngyllt	1.00 (3)	1.00 (2)	1.00 (5)	it
Gressgyllt	1.00 (3)	1.00 (2)	1.00 (5)	1.00 (3)
Rognkjeks	it	it	0.00 (3)	it

it= ikke testet

Av alle leppefiskartene som ble vurdert viste gressgyllt å være den mest sensitive arten. Samtlige 8 gressgyllt som ble testet gjenvant aldri bevisstheten og døde som følge strømeksponeeringen. Berggyllt derimot viste en variabel respons for strømeksponeering. Som vist i tabell 3 hadde Berggyllt en gjennomsnittlig akutt dødelighet på 22% og 73% ved 5 og 30 sekunders strømeksponeering. Imidlertid viste resterende fisk tegn til oppvåkning ved å gjenvinne ventilasjon og svake øyereflekser innen 2 min etter strømeksponeering. I denne ble fasen kan fisken fortsatt defineres med en sannsynlig bevisstløshet, men erfaringene tilser at fisk som gjenvinner basalreflekser vil snarlig gjenvinne bevissthet og vis versa (Lamboij et al. 2010). For Berggyllt var gjennomsnittlig (SD) strøm på 0.81 (0.35) ampere, uavhengig av fiskestørrelse ($r=-0.12$; $p>0.05$). Imidlertid var det en svak sammenheng mellom ampere-styrke og sannsynlighet for død/oppvåkning ($r= -0.51$; $p<0.05$).

Tabell 3: Andel dødelighet og oppvåkningstid for leppefisk eksponert for hhv. 5 og 30 s strøm (105 V, 100Hz, AC+DC)

	Dødelighet (p)		Oppvåkning (s)		Vekt (g)	
	Strøm eksponering (s)				Mean	SE
	5	30	5	30		
Berggyllt	0.22	0.73	101	452	350,9	21,7
Grønngyllt	0.00	it	95	it	261,5	6,5
Gressgyllt	1.00	1.00	død	død	99,8	12,2

Ved avlaving av berggyllt inkludert bløgging ble det vist at for 25 fisk eksponert for 5 s AC+DC etterfulgt av bløgging fikk 5 fisk kategori 1 av øyereflekser etter henholdsvis 2x3, 4, 5 og 7 minutter, før øyerefleks forvant og til fisken ble klassifisert som død (>10 min). De resterende fiskene viste ingen øyerefleks frem til død. Imidlertid viste ingen fisk tegn til reflekser, med unntak av 1 fisk når eksponert for taktil stimuli. Av 73 berggyllter som ble filetert hadde 3 blødningskader som kunne klassifiseres som lett kvalitetsforringende, med små bloduttredelser langs ryggrad. Imidlertid hadde ingen av fiskene knekt ryggrad, noe som indikerer at fisken vil kunne håndtere strømeksponeering relativt bra.

Rognkjeks

Rognkjeks viste seg å inneha andre utfordringer enn andre oppdrettsarter for å kunne elbedøves. Forbeiningsknutene/platene i dermis synes å kunne lede strøm, samtidig som epidermis er tjukk og har isolerende effekt. Dette kunne observeres ved en del gnistdannelser i kontaktflaten og rask varmeutvikling uten nevneverdig ampere sammenlignet med andre arter når fisken ligger i sidelengs posisjon. Som vist i tabell 3 var det en signifikant økning i ampere gjennom dyret straks en rettet opp fisken slik at en fikk en god kontaktflate gjennom sugekoppen og elektroder plassert direkte mot hodet ($P < 0.005$, ANOVA). Utfra disse kriteriene ble det konkludert at rognkjeks ikke kunne bedøves med laksebedøvere som nyttes på kommersielle lakseslakterier (Tabell 2). Avbruddskriterium ble oppnådd allerede etter at 3 fisk (20 – 40 g) fikk 5 sekunders eksponeringstid, og ingen tegn til bedøvelse ble observert. Ved å nytte enklere og billigere teknologi med 220 V, 50 HZ, AC viser resultatene at fisken lar seg bedøve innen 0.5 s, og 100 % bedøvelse ble oppnådd etter 5 s eksponering, uavhengig av posisjon ($p > 0.51$; z-test). Fisken som ble eksponert varierte i størrelse fra 200g til 3900 g, og ampere gjennom fisken var uavhengig av størrelse ($r = 0.017$; $p > 0.05$).

Tabell 4: Andel rognkjeks bedøvet etter 0.5 og 5 sekunder strømeksposering med 220 V, 50 HZ AC. Fisken er plassert mellom 2 elektroder i stående eller liggende posisjon.

	Sanns. bedøvet (p)		Elektrisk strøm (A)		Vekt (g)		n
	0.5 s	5 s	Mean	SE	Mean	SE	
Vertikal	0.96	1.00	2,48	0,23	582,2	160,6	25
Sidelengs	0.91	1.00	0,40	0,05	694,6	247,8	11

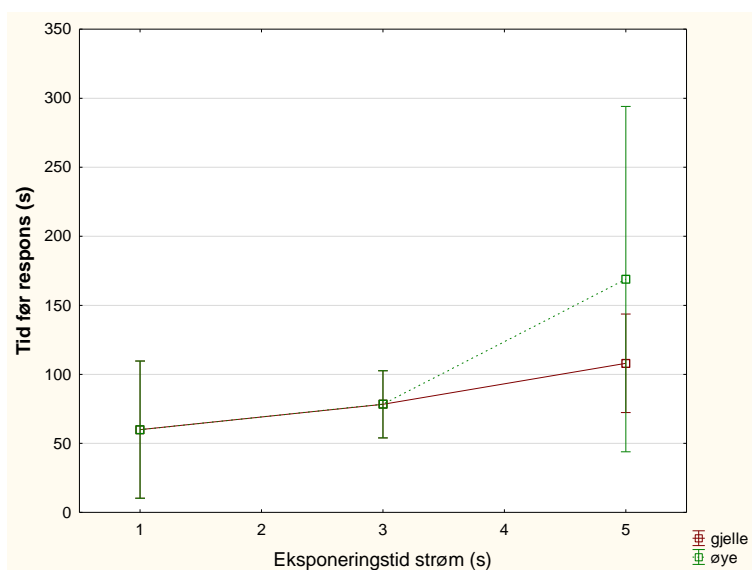
Imidlertid var ampere-gjennomstrømningen høy, noe som medførte gnist og varmedannelse i fisken. Som vist i figur 19, fikk fisk som sto i en fiksert posisjon brennmerker innen 5 s. Av alle fiskene testet var det totalt 6 fisk som ikke viste tegn til akutt dødelighet som følge av strømeksposeringen. Av disse 6, var det 2 fisk som gjenvant øyereflekser, hvorav 1 rognkjeks viste tegn til å reagere på taktil stimuli. Statistisk analyse avslører ingen signifikante forskjeller i dødelighet mellom fisk plassert i ulike posisjoner på henholdsvis 88% og 72% mellom stående og liggende fisk.



Fig. 19. Svimerker hos rognkjeks ved eksponering for 220 V, 50 HZ, AC.

Bedøving av rognkjeks i sjøvann

For bedøving av fisk i sjøvann ble 20 rognkjeks med snittvekt (SD) på 187 (65) g eksponert for 1, 3 og 5 sekunder med strøm. Totalt 20 av 20 fisk viste tegn til å være bedøvet etter 1 s med eksponering for 322 V/m 50 Hz AC med tilstedeværelse av et epileptisk anfall. Som vist i Figur 3 var det en signifikant økning i tiden fisken kan ansees som bedøvet fra 60 s til 160 s etter bedøving med 1 til 5 sekunders eksponeringstid ($r=0.58$, $p<0.05$). Til forskjell fra tørrbedøving observerte en ingen akutt dødelighet hos rognkjeks, hvor samtlige fisk, med unntak av 1 fisk måtte termineres med slag mot hode innen oppfølgingsperioden på 10 min. Til forskjell fra tørrbedøving ga bedøving i vann ingen synlige skader eller brennmerker.



Figur 20: Gjennomsnittstid med konfidensintervaller for vurdering av grad 1 i gjelleventilasjon og øyereflekser for rognkjeks eksponert for 1,3 og 5 s med 322 V/m, 50 HZ, AC i sjøvann.

4 Diskusjon

I tråd med tidligere studier på laksefisk kan rensefisk bedøves innen 0.5 s i luft (Lambooij et al. 2010) og 1 s sekund i vann (Robb and Roth 2003) med bruk av både 50 Hz AC og 100 Hz AC+DC. Tidligere studier med EEG på en rekke arter viser at det ikke er alltid samsvar mellom bevissthet og adferdsresponser hos fisk (Kestin et al. 2004; Lambooij et al 2010), hvor tilsynelatende bedøvet fisk kan være ved bevissthet og vise versa. Imidlertid viser resultater med EEG at en tilstedeværelse av et epilepsianfall er en god indikator på at et dyr er bevisstløs (Cook et al 1995, 1996). Imidlertid vil usikkerheten om fiskens tilstand øke i takt med tiden. I disse aktuelle tilfellene undersøkte en fiskens respons ovenfor en strømeksposering på 0.5 s i luft og 1 s i vann. Årsaken til denne tidsforskjellen er at vann har kapasitive egenskaper, noe som forsinker tiden for at et elektrisk felt kan bygges opp. Tidligere studier på laks av Roth et al (2003) viser at 0.8 s er laveste tid en kan bedøve laksefisk med feltspenninger rundt 220 V/m. For krabbe som innehar mye av de samme egenskapene som rognkjeks viser lignende studier at man må opp mot 550 V/m for å kunne bedøve dyrene innen 1 s og 220 V 50 Hz, AC for å bedøve i tørre bedøvere (Roth and Øines 2010; Roth and Grimsbø. 2016). Å forsøke å bedøve rognkjeks i vann ned mot 0.5 s vil innebære en dyrevelferdsmessig risiko som ikke kan forsvares. Skal en bevege seg ned mot 0.5 s eksponeringstid i sjøvann vil det anbefales at en undersøker dette i kombinasjon med EEG for å sette en standardprotokoll på hvilken ampere og spenning som er nødvendig for å oppnå ønsket effekt utover 1 sekund som er anbefalt av EFSA (2004).

Resultatene på rensefisk viser at de ulike artene må behandles ulikt m.h.t. til bedøving og avlaving, noe som kan gi en rekke utfordringer på et lakseslakteri. Resultatene på berggylt er i samsvar med hva en tidligere har observert for laks. En kan derfor i utgangspunktet følge de samme prosedyrene som for laks både med hensyn til bedøving og avlaving ved slag og bløgging (Lambooij et al. 2010). Imidlertid vil alle andre arter av rensefisk kunne by på en rekke utfordringer i et lakseslakteri. Tidligere observasjoner fra næringen fra både på slakteri og ombord på destruksjonsbåter viser at rognkjeks ikke lar seg bedøve med eksisterende utstyr. Dette er bekreftet gjennom disse studiene hvor rognkjeks lar seg rett og slett ikke bedøve med AC+DC selv ved lang eksponeringstid. Årsaken synes å være kombinasjonen av et isolerende tykt hudlag (epidermis) kombinert med forbeininger i dermis. Dette gir i utgangspunktet en høy kontaktmotstand, samtidig som dermis leder strøm rundt fisken fremfor korteste vei gjennom. Dette illustreres klart i tabell 3, hvor ampere-gjennomstrømningen øker med en faktor på 6 ganger ved å endre posisjonen og sikre mindre kontaktmotstand. Til tross for tilsvarende ampere-gjennomgang som leppefisk på ca. 1.2 amper ved 100 V, lar rognkjeks seg ikke bedøve med AC+DC. Alternativet vil være å øke AC+DC spenningen. Dette kan imidlertid by på kvalitetsutfordringer for laksen som går gjennom systemet, selv om enkelte slakterier har testet ut spenninger opp mot 150 V. Ettersom likestrøm med en liten høyfrekvent AC på topp vil ha lavere stimulerings effekt på nervesystemet enn nettspenning (Vibert 1967), vil en oppnå bedre resultater ved å bruke 50 HZ, AC på rognkjeks (Tabell 3). Dette vil kun kunne brukes til fisk for destruksjon ettersom sinusoidal AC er kjent for å kunne skade laksefisk med opptil 80% skader i ryggregionen (Roth et al. 2003, 2004). I dette studiet er det få indikasjoner på at rensefisk er følsomme for elektroskader (filét), men på den annen side viste det seg at rognkjeks varmes fort opp og kan få brannskader i skinn. I dette tilfelle har fisken stått i en fiksert posisjon, hvor kontaktmotstanden vil øke i takt med temperaturøkningen. I en kommersiell tørrbedøver vil dette problemet

kunne reduseres noe da fisken vil være i bevegelse. Ettersom anatomien til rognkjeks er en stor kuleformet kropp med forbeininger, vil dette lett hindre elektrodene i å komme i kontakt med hodet ved en vilkårlig innmating. I likhet med andre arter forutsetter dette at tørrbedøveren bruker mange, men små elektroder, slik at minst en elektrode vil kunne berøre hoderegionen til rognkjeks. Dette problemet vil også kunne komme til å gjelde de andre rensefisk artene som gressgylt, bergnebb og til en viss grad små grønngylt. Disse artene er rett og slett for små til å kunne gå gjennom kommersielle laksebedøvere. Disse risikerer å ikke komme i kontakt med elektrodene i det hele tatt. I likhet med rognkjeks må elbedøveren tilpasses arten med flere og mindre elektroder.

Mye av løsningen for human avlaving av rensefisk ligger i teknologien som brukes til destruksjon av fisk. Ettersom 220 V, 50 HZ AC gir en høy andel dødelighet for rognkjeks vil effekten på leppefisk være enda større. Imidlertid viser studiene at en økt eksponering til 30 s på AC+DC ikke sikret en høy nok andel død til å kunne brukes for avlaving. Dersom en sorterer ut fisken under slakting vil rensefisk kunne følge en enkel linje med rimelige teknologi. Her har industrien flere alternativer å velge mellom, avhengig av bruksformålet og avlivingsmetoder. En kan nytte tradisjonelle tørrbedøvere med mindre, men flere elektroder koblet til isolerte ringtrafo. Disse systemene kan gi noe varmeutvikling og skader, men vil i kombinasjon med kvern kunne sikre human avlaving, ikke bare rensefisk, men all utsortert fisk. Et annet alternativ vil være å bedøve fisken i sjøvann. I disse systemene vil fiskens størrelse og orientering være uvesentlig m.h.t. til effekten. Likeledes vil varmeutvikling elimineres. Utfordringen er ampereforbruket i disse systemene. Som vist i dette studiet har oppgradering av elektrobædere ombord Hordafør AS sine fartøy til >300 V/m vært tilstrekkelig for å bedøvefisken innen 1 s. Utfordringen i alle tilfeller blir å avlive all fisk slik at disse ikke gjenvinner bevisstheten før kverning. Som vist i Figur 3 vil tid før første tegn til gjenvinning av basale reflekser variere fra 40- 70 sekunder avhengig av eksponeringstid. Dette samsvarer med tidligere studier som viser at de basale reflekser ikke kan gjenvinnes før utløp av de epileptiske anfallene som har en varighet mellom 30- 60 s. Dermed vil en avlaving ved fysisk destruksjon av fisken innen 30-60 s redusere risiko for dårlig dyrevelferd betraktelig, uavhengig av den akutte dødeligheten man får som følge av strømeksponeeringen.

5 Konklusjon

Vi konkluderer med at eksisterende kommersielle laksebedøvere ikke egner seg for bedøving og avliving av rensefisk. Unntaket er berggylt, men det vil være en viss risiko for at dyret kan gjennomvinne bevisstheten etter bløgging. Ettersom flere rensefisk må behandles særskilt anbefales det å utvikle egne bedøvelse og avlivingslinjer hvor bruk av nettspenning 220V, 50 Hz, AC benyttes. For avliving kan fisken, dersom ønskelig, bløgges eller kvernes innen 30-60 s etter eksponering for å sikre en human død.

Videre arbeid

Gjenfangst og gjenbruk av rognkjeks er en nødvendighet dersom rensefisk i fremtiden i det hele tatt skal kunne benyttes og kalles bærekraftig. Dette er bakgrunnen for at vi ser det nødvendig med en helhetlig strategi for å kunne fange inn, gjenbruke og til slutt utnytte det produktet som rensefiskens tross alt er. I dette prosjektet har det blitt utført en pilotstudie på gjenfangst av rognkjeks v.h.a. passive feller ved å bruke attraktanter i form av farge (substrat) og lys. Forsøk i laboratorieforsøk ga 75% gjenfangst i løpet av en time, men i forsøk i storskala ble det ikke oppnådd noen nevneverdig fangst. Det er vanskelig å peke på direkte årsaker til dette. De kontrollerte forsøkene ble gjort med relativt små fisk (30-80 g), men denne størrelsen fisk var i høy grad tilstede også i merd-forsøkene, og kan ikke alene forklare mangelen på suksess i merd-forsøk. Laboratorieforsøkene ble utført i sommerhalvåret, mens storskala-forsøkene ble utført på vinteren. Fiskens respons kan være forskjellig på forskjellige årstider (eksterne lysforhold/fotoperiode). Dette fikk man indikasjoner på da fisken i laboratoriet (som tidligere responderte på blått lys) ikke lenger var interessert i det blå, men responderte på skiftende farger (diskolys). Temperatur kan også ha en innvirkning. I tillegg har man i en merd en del andre faktorer som kan ha en innvirkning på rognkjeksens generelle adferd. Svært mye av fisken hviler i rensefisk-skjulene, og det kan være at lys-stimuliet vi ga dem var for svakt til at de oppfattet det, eller ikke attraktivt nok til at de valgte å forlate skjulet sitt. Tilstedeværelse av laks/ørret kan også være en forstyrrende faktor dersom fisken må passere "åpent farvann" for å bevege seg mot fellen. Det er i det hele tatt vanskelig å peke på enkeltfaktorer som grunn til manglende gjenfangst i sjø, men vi mener at de innledende forsøkene er såpass lovende at dette temaet bør undersøkes nærmere. Det videre arbeidet bør inneholde følgende hovedmomenter:

Produksjon og gjenfangst

Funnene som ble gjort i dette prosjektet danner grunnlag og viktige premisser for videreføring og mer grundige undersøkelser av temaet. Forsøkene som ble gjort viste helt klare farge/lys-preferanser hos rognkjeks i de gjennomførte laboratorieeksperimentene, og til tross for at funnene i denne omgang ikke lot seg overføre til kommersiell gjenfangst bør området utforskes nøyere. To prototype-feller ble utviklet i prosjektet, men uten nevneverdig suksess. En av hovedprioritetene i et oppfølgingsprosjekt vil derfor være å lage forskjellige prototype-feller basert på forskjellige prinsipper for uttesting i sjø, hvor

det er mange parametere (årstid, livsfase, temperatur, lysforurensing, rensefisk/laks-interaksjoner m.m.) som må tas hensyn til.

Videre ser man at responsen på lys er noe som kanskje kan utnyttes for å forbedre beiting på lus. I perioder på året/døgnet vil laks og rognkjeks foretrekke forskjellige dyp i merden. Rognkjeksene befinner seg dermed ikke samme sted som laksen, og kan følgelig ikke gjøre jobben den er satt ut for. Vi foreslår derfor å gjøre læringsforsøk, hvor kombinasjonen lys/mat står sentralt. Ved å koble lys til mating vil man skape en positiv respons-effekt som kan utnyttes for å styre rognkjeksene til de dyp hvor laksen befinner seg, og dermed forbedre beite-effekten. Disse forsøkene bør gjøres i kontrollert skala for å dokumentere en læringseffekt for deretter å prøves ut under kommersielle forhold.

Utnyttelse og etterbruk

I 2016 ble det produsert ca. 25 millioner rognkjeks, og man regner med at toppen er nådd først når man er oppe i 40 mill. individer pr. år. Dette innebærer at man kan ende opp med en total biomasse (kun rognkjeks) på så mye som 16.000 tonn pr. år (forutsatt innhøsting ved en snittstørrelse på ca. 400 g). I et forprosjekt utført av Nofima i 2016, samt et prosjekt utført av Akvaplan-niva i regi av FHF i 2015, ble det asiatiske markedet identifisert som en aktuell importør av hel rognkjeks. Det er imidlertid et krevende arbeid å opprette en eksportlinje for en ny og relativt ukjent art, og det er en rekke forhold som bør avklares, deriblant disse hovedmomentene:

1. Undersøke innkjøpskrav, produktpreferanser og potensiale i et utvalgt asiatiske marked
2. Teste næringsinnhold i oppdrettet, ung rognkjeks
3. Teste ulike prosesseringsmetoder for å oppnå optimal kvalitet
4. Identifisere behov for regelverksavklaring og utfordringer knyttet til salg for humant konsum
5. Identifisere aktuelle distribusjonskanaler til utvalgte marked
6. Vurdere verdiskapingspotensialet ved eksport av rognkjeks til humant konsum i utvalgt marked

Et tidlig fokus på disse punktene og, etter vår mening spesielt pkt. 2 og 3, vil være en forutsetning for at rognkjeks skal kunne utnyttes kommersielt etter at den har gjort jobben sin i laksemerden, samt sikre at rognkjeks blir en bærekraftig ressurs, og ikke et problemavfall.

6 Referanser

1. Angel, M., et al., 1982. Low variability in planktonic and micronektonic populations at 1,000 m depth in the vicinity of 42 N, 17 W; evidence against diel migratory behavior in the majority of species. *Biological Oceanography*. 1, 287-319.
2. Cook CJ, Devine CE, Gilbert KV, Smith DD and Maasdland SA. 1995. The effects of electrical head-only stun duration on electroencephalographic-measured seizure and brain amino acid neurotransmitter release. *Meat Sci*. 40:135-147.
3. Cook CJ, Maasdland SA, Devine CE and Gilbert KV. 1996. Changes in the release of amino acid neurotransmitters in the brains of calves after head-only electrical stunning and throat cutting. *Res. Vet. Sci*. 60: 255-261.
4. EFSA, 2004. Welfare aspect of animal stunning and killing methods. Scientific report of the scientific panel of animal health and welfare on a request from the commission related to aspects of animal stunning and killing method. EFSA-AHAW/04-027, Brussels, EC, 241.
5. Kestin, S. C., van de Vis, J. W., Robb, D. H. F., 2002. Protocol for assessing brain function in fish and the effectiveness of methods used to stun and kill them. *Vet. Rec*. 150, 302-307.
6. Lambooij, E. et al. (2010). Percussion and electrical stunning of Atlantic salmon (*Salmo salar*) after dewatering and subsequent effect on brain and heart activities. *Aquaculture* 300, 107-112.
7. Robb, D. H. F., Roth, B., 2003. Brain activity of Atlantic salmon (*Salmo salar*) following electrical stunning using various field strengths and pulse durations. *Aquaculture* 216, 363-369.
8. Robb, D.H.F., Wotton, S.B., McKinstry, J.L., Sorensen, N.K. & Kestin, S.C. (2000). Commercial slaughter methods used on Atlantic salmon: determination of the onset of brain failure by electroencephalography. *Vet. Rec*. 147, 298-303.
9. Roth B and Øines S. 2010. Stunning and killing of edible crabs (*Cancer pagurus*). *Animal welfare*. 19, 287-294.
10. Roth B. and Grimsbø E. 2016. Electrical stunning of Edible crab (*Cancer pagurus*)- From single experiments to commercial practice. *Animal welfare* 25, 489-497.
11. Roth, B., Imsland, A., Moeller, D. & Slinde, E. (2003). Effect of electric field strength and current duration on stunning and injuries in market-sized Atlantic salmon held in seawater. *N. Am. J. Aquacult.* 65, 8-13.
12. Vibert, R., 1967. Application of electricity to inland fishery biology and management. In: Vibert, R. (Ed.), *Fishing with Electricity*. Whitefriars press Ltd, London, UK, pp. 3-50.
13. Welch, V., et al., 2005. The cause of colouration in the ctenophore *Beroe cucumis*. *Current Biology*. 15, R985-R986.