

## Energimobilisering og -deponering hos arktisk røye (*Salvelinus alpinus*)

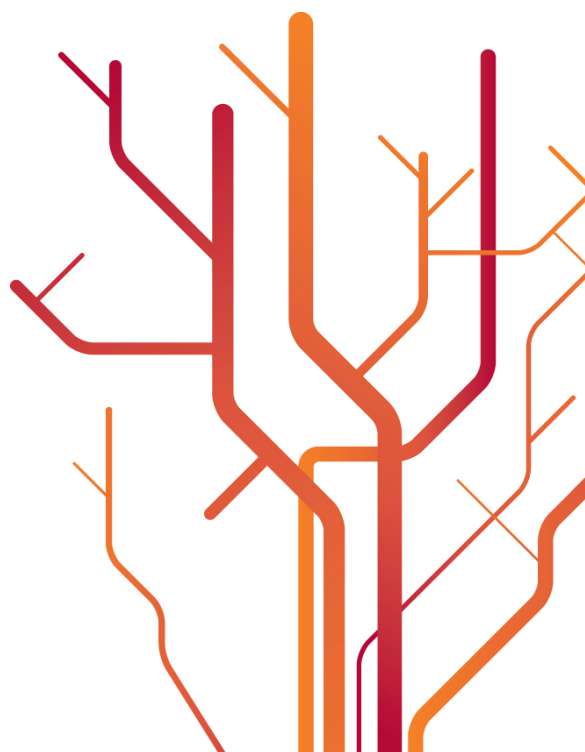
Ved forlenget sult eller fôring om våren



**Mads Martinsen og Vidar Strøm**

Mastergradsoppgave i fiskeri- og havbruksvitenskap  
- studieretning oppdrettsbiologi (60 stp)

Mai 2011





## Sammendrag

Arktisk røye (*Salvelinus alpinus*) ble brukt for å undersøke fysiologiske og biokjemiske forskjeller mellom en gruppe fisk sultet og en gruppe fisk tilbydd fôr i den samme perioden. Dette var i forlengelsen av en vinterfase der fisken hadde lite eller ingen fôrinntak. Forsøksfiskene var 360 individer med bakgrunn i en anadrom røyebestand fra Vårfluesjøen på Svalbard. Disse ble holdt ved Havbruksstasjonen i Kårvika. Fiskene ble holdt på simulert naturlig fotoperiode (69 °N) og konstant ferskvannstemperatur på 5 °C fra 25. mars til 17. juni 2010. De ble også fulgt opp etter forsøksslutt, fram til 17. august, med observasjoner på vekt (W), lengde (L) og morfologiske tegn til kjønnsmodning. Den sultede fisken hadde signifikante reduksjoner i vekt og kondisjonsfaktor ( $\frac{W}{L^3} \times 100$ ) gjennom forsøket, samt en mobilisering av kroppsfett, leverglykogen og kroppsprotein. Rundt halvparten av vekttapet skyldtes tap av vann. Parallelt med dette ble det målt en tilsynelatende nedregulering av det metabolske apparatet. Dette med bakgrunn i en reduksjon i den totale katalytiske kapasitet hos flere leverenzymmer sentrale i metabolske prosesser; glukose-6-fosfat dehydrogenase (G6PDH), 3-hydroksyacyl-coenzym A dehydrogenase (HOAD) og laktat dehydrogenase (LDH). Blant fisken tilbydd fôr var det en stor variasjon i når fisken startet å øke i vekt. Enkelte individer økte i vekt gjennom hele forsøksperioden, mens andre ikke startet å øke i vekt før etter forsøksslutt. Det var en klar sammenheng mellom kjønnsmodning og vektøkningstidspunktet, der individene som var på et kjønnsmodningsspor startet å øke i vekt tidligere enn umoden fisk. Fisk som økte i vekt gjennom hele forsøksperioden akkumulerte fett, protein og leverglykogen, og hadde en tilsynelatende oppregulering av det metabolske apparatet i takt med økende vekst. Fisk som ikke økte i vekt gjennom forsøksperioden var sammenliknbare med fisk som ble sultet, men hadde et noe lavere vekttap enn disse. Det ble forsøkt å modellere fettinnholdet i forsøksfisken. Vanninnhold viste seg å være godt egnet, mens kondisjonsfaktor var mindre egnet for å modellere og predikere fettinnholdet.

**Nøkkelord:** arktisk røye; *Salvelinus alpinus*; kroppssammensetning; sult; kjønnsmodning; leverenzym; fettinnhold.



## Forord

Denne masteroppgaven har vært utført ved Norges Fiskerihøgskole (NFH) og institutt for arktisk og marin biologi (AMB) ved fakultet for biovitenskap, fiskeri og økonomi (BFE), universitetet i Tromsø (UiT). Forsøket ble utført ved havbruksstasjonen i Kårvika, mens laboratoriearbeidet ble utført ved AMB. I den forbindelse er det mange personer som fortjener takk.

Først og fremst takk til hovedveileder og tilrettelegger for prosjektet, professor Even H. Jørgensen, for god hjelp og veiledning gjennom hele prosessen. Veileder professor Malcolm Jobling fortjener også stor takk, ikke minst for uvurderlig hjelp og konstruktiv kritikk under skriveprosessen.

En stor takk går til overingeniør Tanja Hanebrekke for utførelsen av kortisolanalysene og for god veiledning og hjelp på lab. Takk til Fredrikke Musæus for hjelp under samplingene i Kårvika og utførelsen av kroppssammensetningsanalysene. Takk til Birgit Süssenbach for en omfattende validering av enzymanalyseprotokollene samt analyser av leverproteininnhold og to av leverenzymene. Takk til seniorforsker Bjørn Steinar Sæther ved NOFIMA og førsteamanuensis Einar Nilssen for hjelp med statistikk. Takk til personalet i Kårvika som sørget for den daglige røktingen av forsøksfisken.

Vi vil også takke alle i kull 2006 for en uforglemmelig studietid, og en spesiell takk til kontorfellesskapet vi har vært en del av det siste året. Takk til våre foreldre for god støtte og korrekturlesing.

Til slutt vil vi takke hverandre for godt samarbeid!

Tromsø, 16. mai 2011



*Mads Martinsen*



*Vidar Strøm*

# Innholdsfortegnelse

<b>1.0 Innledning</b> .....	1
1.1 Røyas utbredelse og biologi .....	1
1.2 Vekst og kjønnsmodning.....	1
1.3 Strategier ved sult.....	2
1.4 Mobilisering av endogene energireserver .....	3
1.5 Metabolisme – hormoner og enzymer.....	3
1.6 Adaptasjon.....	4
1.7 Hensikten med forsøket.....	4
<b>2.0 Material og metode</b> .....	6
2.1 Fisk og forsøksbetingelser.....	6
2.2 Etablering av behandlingsgrupper.....	6
2.3 Vekthistorie .....	7
2.4 Fôrinntak .....	7
2.5 Samplingsprosedyre .....	8
2.6 TGC, kondisjonsfaktor, HSI, og FCR .....	9
2.7 Analyser.....	9
2.7.1 Kvantifisering av kortisol.....	9
2.7.2 Leverenzymer, leverprotein og leverglykogen.....	11
2.7.3 Kroppssammensetning (kroppsfett, -aske, -protein og vanninnhold) .....	13
2.8 Databehandling og statistikk .....	14
2.8.1 Statistiske analyser .....	14
2.8.2 Samplet fisk.....	14
2.8.3 Statister.....	15
2.8.4 Signifikansnivå og symbolbruk.....	16
2.8.5 Repeated measure - forutsetninger .....	16
2.8.6 Arcsintransformering .....	16
2.8.7 Korrelasjonsmodeller .....	17
<b>3.0 Resultat</b> .....	18
3.1 Behandlingsgruppe sult.....	18
3.2 Behandlingsgruppe fôr .....	23
3.3 Sammenlikning av behandlingsgruppe sult og behandlingsgruppe fôr .....	34

3.4 Sammenlikning av behandlingsgruppe sult og undergruppe 5 i behandlingsgruppe fôr	37
3.5 Sammenhenger mellom prosent fettinnhold, vanninnhold og kondisjon	40
<b>4.0 Diskusjon</b>	44
4.1 Behandlingsgruppe sult	44
4.1.1 Vekttap	44
4.1.2 Endogen energimobilisering	46
4.1.3 Energibidrag fra glykogen, fett og proteiner	49
4.2 Behandlingsgruppe fôr	50
4.2.1 Vektøkningstidspunkt og undergruppeinndeling	50
4.2.2 Mulige årsaker til ulike vektøkningstidspunkt	51
4.2.3 Levermetabolisme	54
4.2.4 Fettmetabolismen oppreguleres	54
4.2.5 Glukoneogenese	55
4.2.6 Oppregulering av metabolsk apparat	55
4.3 Sammenlikning av behandlingsgruppe sult og behandlingsgruppe fôr	56
4.3.1 Utvikling og kjønnsmodning	56
4.3.2 Plasmakortisol og plasmaglukose	57
4.4 Sammenlikning av behandlingsgruppe sult og undergruppe 5 i behandlingsgruppe fôr	58
4.5 Modellering av fettinnhold	59
4.6 Fremtidig forskning	61
<b>5.0 Konklusjon</b>	62
<b>6.0 Referanseliste</b>	63
<b>7.0 Vedlegg</b>	70
7.1 Kvantifisering av kortisol	70
7.2 Leverproteinkvantifisering	73
7.3 Leverenzymkvantifisering	74
7.4 Kvantifisering av leverglukose og leverglykogen	76
7.5 Utviklingsmatrise sult	78
7.6 Utviklingsmatrise fôr	79

# 1.0 Innledning

## 1.1 Røyas utbredelse og biologi

Arktisk røye (*Salvelinus alpinus*) er verdens nordligste ferskvannsfisk, og har en sirkumpolar utbredelse (Johnson, 1980). Man finner den i elver og oligotrofe innsjøer, der innsjøhabitater er mest utbredt, men det finnes også populasjoner med anadrome individer (Klemetsen *et al.*, 2003). Røyas levehabitat karakteriseres av lave temperaturer og store svingninger i fotoperiode og mattilgang gjennom året (Johnson, 1980; Svenning *et al.*, 2007; Strand *et al.*, 2008).

Anadrom røye, sjørøye, forekommer i nordlige deler av røyas utbredelsesområde, i ferskvannsystemer nært kysten i nordlige deler av Russland, Canada og Norge, samt Grønland og Island (Johnson, 1980; Jørgensen *et al.*, 1997; Klemetsen *et al.*, 2003). Denne smoltifiserer om våren og migrerer deretter fra ferskvann til saltvann for å kunne utnytte den rike mattilgangen i havet. I denne perioden oppholder sjørøya seg i kystnære områder (Johnson, 1980). For enkelte nordlige bestander, deriblant røye fra Svalbard, er fisken fakultativ anadrom, det vil si at den ikke nødvendigvis migrerer hvert eneste år (Radtke *et al.*, 1996).

## 1.2 Vekst og kjønnsmodning

Fisken vandrer til havet om våren eller tidlig på sommeren, og etter 5-8 uker returnerer den til ferskvann (Berg & Berg, 1993; Gulseth & Nilssen, 2000). Vekta kan da være så mye som doblet, og fettreservene femdoblet (Jørgensen *et al.*, 1997) i forhold til det de var ved utvandring. Kjønnsmoden røye vil gyte i løpet av høsten. Anadrom røye finnes som regel sammen med resident (stasjonær) røye. Disse formene har samme genetiske opphav, og avkommet fra to anadrome røyer kan bli resident og omvendt. Det er også vist at residente individer kan bli anadrome på et senere tidspunkt, og at ett individ derved kan innta begge formene i løpet av livssyklusen (Nordeng, 1983).

Tidligere laboratorieforsøk gjort på anadrom Hammerfestrøye (Sæther *et al.*, 1996; Tveiten *et al.*, 1996) og Svalbardrøye (Damsgård *et al.*, 1999) har vist store sesongmessige variasjoner i matinntak og vekst, med et høyt inntak og vekst om våren, og en nedgang i inntaket og veksten om høsten. Både økningen om våren (Tveiten *et al.*, 1996), samt nedgangen om



høsten (Sæther *et al.*, 1996), har vist seg å komme 1-2 måneder tidligere hos fisk som kjønnsmodner, sammenliknet med umoden fisk.

I en modellering av livshistorievariasjonen hos røye (Rikardsen *et al.*, 2004) er det antatt at fisken går gjennom perioder i året der det vurderes om den skal kjønnsmodne og smoltifisere, såkalte modningsvindu og migrasjonsvindu. Om høsten går fisken gjennom et migrasjonsvindu. De største individene, med lengde over en genetisk bestemt terskel, vil smoltifisere den påfølgende våren (Gulseth *et al.*, 2001). De minste individene vil bli residente (Rikardsen *et al.*, 2004). Noe seinere om høsten gjennomgår fisken et modningsvindu. Fisk med høye andeler av fett og lav nedbrytingshastighet av fettlagrene om høsten vil modne det påfølgende året (Rikardsen *et al.*, 2004). Fisken som fortsatt har best fettstatus, samt kondisjon (Jobling & Baardvik, 1991), om våren vil modne den kommende høsten.

### **1.3 Strategier ved sult**

Gjennom vinteren er anadrom røye lite aktiv. Forskning tyder på at i sitt naturlige habitat spiser disse individene lite eller ingenting i denne perioden, selv om mat er tilgjengelig (Boivin & Power, 1990). Det betyr at fisken er i en negativ energibalanse gjennom vinteren, de taper vekt og forbrenner sine fettlagre (Jørgensen *et al.*, 1997). Selv individer i ikke-anadrome bestander som spiser gjennom vinteren, er nødt til å nytte seg av kroppsreservene i denne perioden (Amundsen & Knudsen, 2009). Når det gjelder strategier for å overleve perioder med lav mattilgang, kan dette omfatte regulering av aktivitet og metabolisme. Flere arter reduserer aktiviteten om vinteren for å redusere energiforbruket. Dette er observert hos blant annet laksefisk (Huusko *et al.*, 2007), deriblant røye (Boivin & Power, 1990). Parallelt med reduksjonen i aktivitet, er det vist at flere fiskearter også reduserer metabolismen ved sult for å forsøke å bevare energilagrene så lenge som mulig (Love, 1980; Wieser, 1991). Fiskene er ektoterme dyr, og lavere temperatur om vinteren vil følgelig også medføre senket metabolisme og et redusert energiforbruk (Love, 1980; Weatherley & Gill, 1987a; van Dijk *et al.*, 2002).

## 1.4 Mobilisering av endogene energireserver

Ved sult reduseres massen til enkelte organer, både for å senke organets energibehov, og for å mobilisere lagret næring (McCue, 2010). Energilagrene i lever og muskel, glykogen og triglyserider (TAG), mobiliseres. Glykogenlagrene utgjør normalt 1-6 % av levervekten hos fisk (Navarro & Gutiérrez, 1995). Ved behov brytes glykogen ned til glukose, som transporteres via blodet til målvevet. Der kan glukosen benyttes med det samme, eller rekonverteres til glykogen (Love, 1980).

Fett kan lagres lett tilgjengelig i vev med høy energitetthet, lavt vanninnhold og lave energikrav, noe som gjør det til den foretrukne energilagringformen hos de fleste organismer (Allen, 1976; Cahill, 1976), deriblant fisk (Sargent *et al.*, 2002). Den generelle oppfatningen er at TAG mobiliseres samtidig med eller etter glykogenmobiliseringen og før en eventuell proteinmobilisering (Navarro & Gutiérrez, 1995).

Det ser ut til at proteinene spares i starten av en sultetilstand. Proteolysen starter kun når mer tilgjengelige energikilder som glykogen og TAG begynner å brukes opp (Weatherley & Gill, 1987b; Navarro & Gutiérrez, 1995). Samtidig som energilagrene brytes ned, er det vist at vannprosenten i vev øker ved sult (Love, 1980; Weatherley & Gill, 1987b).

Vev tilknyttet fordøyelseskanaalen er av det første vevet som degenereres ved lengre tids sult. Dette brukes som næring (Love, 1980). Det er også forbundet høye metabolske kostnader ved å opprettholde vevet i fordøyelseskanaalen, da den metabolske raten er spesielt høy i dette vevet (Wang *et al.*, 2006; McCue, 2010), noe som også gjør det fordelaktig å redusere massen. Vev essensielt for overlevelse, som hjerne og hjerte, ser ikke ut til å berøres, eller kun i mindre grad, ved sult (Creac'h & Cournède, 1965; Love, 1980).

## 1.5 Metabolisme – hormoner og enzymer

Med tanke på både energihomeostase, vekst, regulering av matinntak samt sult, er det en rekke hormoner som er sentrale (Weatherley & Gill, 1987a; Navarro & Gutiérrez, 1995). I denne sammenhengen kan man si at hormonene enten har en anabolsk eller katabolsk effekt. Det vil si at de enten er med på å bygge opp eller bryte ned energilagre. Et av disse er steroidhormonet kortisol, som er endeproduktet i hypotalamus-hypofyse-hodenyre akselen, og er forbundet med stressresponsen hos individer utsatt for ugunstige miljøforhold (Wendelaar

Bonga, 1997). Kortisol er vist å ha en katabolsk effekt i fisk, og er med på å mobilisere energilagrene for å møte høyere energikrav forbundet med blant annet stress (Mommsen *et al.*, 1999). Det foreligger derimot forskjellige resultater på om hvorvidt kortisol har en effekt i forbindelse med sult hos røye (Jørgensen *et al.*, 1999; 2002).

En rekke enzymer, fortrinnsvis i leveren, har nøkkelroller i metabolske prosesser. Disse er også, på linje med hormoner, sentrale med tanke energihomeostase. Bestemmelse av aktiviteten til disse enzymene, sammen med analyser av kroppssammensetning og vekst, har vist seg å være et nyttig verktøy for å kunne si noe om de mekanismer som aktiveres ved sult og energimobilisering (Moon & Johnston, 1980; Walzem *et al.*, 1991; Bastrop *et al.*, 1992; Aas-Hansen *et al.*, 2005b; Ombres *et al.*, 2011).

## 1.6 Adaptasjon

Det antas at de store variasjonene i røyas matinntak gjennom året ble utviklet som en respons på de store svingningene i temperatur og mattilgang som fisken opplever i sitt naturlige miljø. Et lavt matinntak, eller fravær av matinntak gjennom vinteren, når noe mat er tilgjengelig, indikerer at variasjonene har utviklet seg til en adaptasjon (Mrosovsky & Sherry, 1980). Dette underbygges ved at røye i fangenskap viser tydelige sesongmessige variasjoner i matinntak og vekst, selv når den er eksponert for konstant temperatur og fotoperiode, samt føres til metning (Sæther *et al.*, 1996).

## 1.7 Hensikten med forsøket

Metabolske og hormonelle prosesser knyttet til sult hos fisk er et mye studert fenomen, blant annet som en følge av den store satsingen det har vært på fiskeoppdrett i den vestlige verden gjennom flere tiår (Nash, 2011). De aller fleste av disse studiene har imidlertid vært gjennomført som kortvarige sulteforsøk, hvor graden av avmagring har vært begrenset (Ali *et al.*, 2003). I de fleste av disse forsøkene har ikke fiskens energistatus vært i nærheten av de lave nivåene en kan se i naturen. Den anadrome røya gjennomgår naturlig perioder med langvarig sult og avmagring. Den er sådan en god modellart for å studere de mekanismer som iverksettes ved langvarig sult og energimobilisering (Jørgensen *et al.*, 1997). Med denne bakgrunn er hensikten med dette forsøket å undersøke følgende:

- Hva skjer med kroppssammensetningen og energireservene blant røye som sultes i forlengelsen av en vinterfase med lite eller ingen matinntak? Hvordan reguleres eventuelt dette av leverenzymmer?
- Hva skjer med kroppssammensetningen og energireservene blant røye som mottar fôr i forlengelsen av en vinterfase med lite eller ingen matinntak? Hvordan reguleres eventuelt dette av leverenzymmer?
- Lar det seg gjøre å modellere fettinnholdet i røya?

## 2.0 Material og metode

### 2.1 Fisk og forsøksbetingelser

Forsøket ble utført i et eget forsøksrom ved Havbruksstasjonen i Tromsø (HiT; 69 °N), som er en godkjent fasilitet for forsøk med levende fisk. Forsøket var på forhånd godkjent av forsøksdyrutvalget (Id 2442). Fisken som ble brukt var avkom av anadrom røye opprinnelig fanget i Vårfluesjøen på Svalbard (79 °N) i 1990 og deretter holdt ved HiT. Generasjonen brukt i vårt forsøk ble klekket i januar 2008. Den ble startfôret i 100 liters sirkulære kar, med kontinuerlig lys og ferskvann med en konstant temperatur på 6 °C. I juli 2008 ble fisken overført til et 3000 liters sirkulært kar med ferskvann og deretter holdt i dette karet på naturlig fotoperiode (transparent tak) og vanntemperatur fram til uttak til forsøket.

Gjennom selve forsøksperioden ble fisken holdt på simulert naturlig fotoperiode (69 °N) og en konstant ferskvannstemperatur på 5 °C. Temperatur ble kontrollert hver dag, og oksygenmetning ukentlig. Vanntilførselen i karet ble justert slik at oksygenmetningsgraden holdt seg over 90 %.

### 2.2 Etablering av behandlingsgrupper

8. og 9. mars 2010 ble 360 individer, som ved visuell inspeksjon viste tegn på at de ikke hadde spist den siste tiden, sortert ut fra et sirkulært 3000 liters kar med cirka 600 individer. Fisken ble bedøvd (Benzocaine, 50 ppm) og merket med Floy tag (Floy FTF-69 fingerling tags; MGF, Seattle) som ble sydd fast i forkant av ryggfinnen. Deretter ble de tilfeldig fordelt på fire 300 liters sirkulære kar med sirkulær strøm. Hvert av disse karene holdt da 90 individer. Fiskens vekt var på dette tidspunktet  $146 \pm 29$  g.

De fire karene ble brukt for å etablere to dupliserte behandlingsgrupper. Fisk i alle kar ble tilbydd fôr fra sorteringstidspunktet fram til forsøksstart 25. mars. Tettheten i karene ved dette tidspunktet var  $48 \text{ kg/m}^3$ . Deretter ble fiskene i kar 1 og 3 tilbydd fôr i overskudd (Nutra Parr 2,0 mm; Skretting, Stavanger, Norge; protein 49-50 %, fett 22 %, stivelse 7-8 %) med en standard skiveautomat (Aqua Produkter as, Sunndalsøra, Norge) til slutten av forsøket 17. juni. Skiveautomaten hadde en utfôringshastighet på 1 runde per 24 timer. Fiskene i kar 2 og 4 ble sultet fra 25. mars til slutten av forsøket.

Etter at forsøket var avsluttet, ble fisken i behandlingsgruppe sult tilbydd fôr. I tillegg gikk man over til en naturlig ferskvannstemperatur. Det ble foretatt tre målinger av lengde og vekt med tre ukers mellomrom etter den siste ordinære samplingsdatoen i forsøket. Modningsstatus til fiskene ble også visuelt inspisert ved disse målingene.

## 2.3 Vekthistorie

På bakgrunn av vekt- og lengdemålinger, samt registrering av tagnummer utført ved hver samplingsdato i forsøksperioden (25.03, 15.04, 06.05, 27.05, og 17.06), ble vekthistorien til fiskene undersøkt. Det viste seg at man kunne dele fiskene innen behandlingsgruppe fôr inn i fem forskjellige undergrupper, basert på mellom hvilke to samplingstidspunkt de først viste en vektøkning. Data for behandlingsgruppe fôr ble derfor presentert for separate undergrupper, hvor undergruppe 1 ble bestående av fisk som økte i vekt gjennom hele forsøksperioden, undergruppe 2 av fisk som først viste en vektøkning mellom andre og tredje sampling, undergruppe 3 av fisk som først viste en vektøkning mellom tredje og fjerde sampling, og undergruppe 4 av fisk som først viste en vektøkning mellom fjerde og siste sampling. Undergruppe 5 ble bestående av fisk som tapte vekt gjennom hele forsøksperioden.

## 2.4 Fôrintak

Fôrintak ble beregnet ved at fôrpartikler ble samlet fra avløpsvannet (Bendiksen *et al.*, 2002) til de to karene som ble gitt fôr under forsøket (kar 1 og kar 3). Det ble foretatt en fôroppsamling tre ganger per uke; mandag, onsdag og fredag gjennom hele forsøket. Når fôroppsamlingen ble foretatt de aktuelle dagene hadde man installert fôroppsamlingsutstyret 24 timer i forveien, slik at man kunne beregne fôrintaket gjennom et helt døgn.

Ut fra biomassen i karene målt ved samplingsdatoene (25.03, 15.04, 06.05, 27.05, og 17.06), ble det beregnet en tilvekst for hvert kar for hele perioden mellom samplingsdatoene, og på bakgrunn av dette ble det igjen beregnet en gjennomsnittlig daglig tilvekst. Denne tilveksten ble så fordelt jevnt på alle dagene mellom sampling, slik at biomassen akkumulerte for hver dag. Den teoretiske daglige biomassen ved hver fôroppsamlingsdag ble så brukt til å beregne fôrintaket i gram per kg fisk per døgn.

Et justert fôrinntak ble beregnet på bakgrunn av biomassen til de undergrupper av fisk som viste en vektøkning i den aktuelle perioden mellom sampling.

## 2.5 Samplingsprosedyre

Ved forsøksstart, forsøksslutt, samt tre ganger i løpet av forsøksperioden, med tre ukers mellomrom (25.03, 15.04, 06.05, 27.05, og 17.06), ble totalt 20 fisk, fem fra hvert av karene, tatt ut. Fem fisker av gangen ble tilfeldig og raskt håvet ut og overført til et kort opphold i en beholder med 30 l vann og en overdose Benzocaine (100 ppm). Uttaket startet med karet nærmest inngangsdøra i forsøksrommet, kar 1, slik at fisk i de andre karene ble minst mulig påvirket av uttaket. Tagnummer ble avlest, deretter ble kroppsvekt avlest på en analysevekt (IF-F/FAA6s; Mettler-Toledo International Inc., Greifensee, Sveits) (nærmeste 1,0 g) og gaffellengde (nærmeste 0,1 cm) ble målt og registrert.

Deretter ble blodprøve tatt. Alle blodprøvene var tatt innen 3 minutter etter uttak. Blodet ble tappet fra caudalvenen ved hjelp av 2 ml hepariniserte vacutainere (BD Diagnostics, Franklin Lakes, New Jersey), og satt på is til plasma ble separert ved sentrifugering ( $6000 \times g$  i 10 minutter ved  $3^\circ\text{C}$ ). Plasma fra hver fisk ble delt i to merkede eppendorfrør og lagret ved  $-80^\circ\text{C}$  for senere analyser av kortisol og glukose. Etter blodprøvetaking ble fiskene overført til et ventekar med 35 liter isvann og Benzocaine (50 ppm) før de ble dissekert. Så snart første blodprøve var tatt, ble fiskene dissekert én etter én. Disseksjonen av lever ble gjort på is, og så raskt som mulig. Leveren ble veid (nærmeste 0,1 g) og deretter delt opp i fem biter; fire små (ca  $0,5 \times 0,5 \times 0,5$  cm) ble fordelt i kryorør, frosset i flytende nitrogen og lagret ved  $-80^\circ\text{C}$ . Èn bit ble senere brukt til å analysere innhold av protein og glykogen, samt aktivitet av ulike leverenzymmer. De andre prøvene ble tatt vare på som reserve. Tilslutt ble fiskens modningsstatus og kjønn undersøkt, før fisken ble pakket inn i aluminiumsfolie, transportert på is og lagret ved  $-20^\circ\text{C}$  for senere analyser av totalt fettinnhold, vanninnhold og aske.

Etter uttaket av 20 fisk, ble all gjenværende fisk i forsøkskarene håvet ut (ca 30-40 fisk av gangen) og bedøvd i kar med 30 liter vann tilsatt Benzocaine (50 ppm). Deretter ble tagnummer registrert, fiskene ble veid og målt, og til slutt ført tilbake til sine respektive kar.

## 2.6 TGC, kondisjonsfaktor, HSI, og FCR

TGC (Thermal-unit Growth Coefficient) ble regnet ut på individbasis etter følgende formel:

$$\frac{\sqrt[3]{W_t} - \sqrt[3]{W_0}}{T \times d} \times 1000, \text{ der } W_0 \text{ er kroppsvekt i gram ved tid 0, } W_t \text{ er kroppsvekt i gram ved tid } t, T$$

er vanntemperaturen i grader Celsius, og  $d$  er antall dager mellom hver vektmåling (Iwama, 1996). Det ble foretatt en inndeling av TGC i behandlingsgruppen fôr etter hvilken undergruppe individene tilhørte.

Fultons kondisjonsfaktor ble regnet ut på individbasis etter følgende formel:  $\frac{W}{L^3} \times 100$ ,

der  $W$  er kroppsvekt i gram, og  $L$  er lengde i centimeter.

HSI (Hepato-Somatisk Indeks) ble regnet ut på individbasis etter følgende formel:  $\frac{LW}{W} \times 100$ ,

der  $LW$  er levervekt i gram og  $W$  er kroppsvekt i gram.

FCR (Feed Conversion Ratio) ble regnet ut etter følgende formel:  $\frac{\text{Biomasseøkning}}{\text{Fôrinntak}}$ , der

biomasseøkning og fôrinntak er målt i gram. Fôrinntaket ble beregnet ved at fôrinntaksmålingene i løpet av perioden mellom sampling (tre målinger per uke) ble summert, og så delt på antall målinger i perioden. Dette gjennomsnittlige daglige fôrinntaket ble så multiplisert med 21 dager mellom sampling for å estimere fôrinntak for hele perioden. Det ble beregnet både en grov og en justert FCR basert på biomasseøkning hos henholdsvis alle individer, og individer som viste en vektøkning i den aktuelle perioden.

## 2.7 Analyser

### 2.7.1 Kvantifisering av kortisol

Konsentrasjonen av kortisol i blodplasma ble bestemt ved hjelp av radioimmunoassay (RIA). Denne metoden går ut på å skape en konkurranse mellom en ukjent mengde antigen (plasma kortisol) og en kjent mengde radioaktivt merket antigen (radioaktivt kortisol fra Amersham Biosciences, Storbritannia) om å binde seg til en begrenset mengde bindeseter på et kortisolspesifikt antistoff (produsert i hvite kaniner).



Jo høyere mengde ukjent kortisol i prøven, jo mer av dette vil utkonkurrere den kjente mengden radioaktiv kortisol tilsatt prøven og binde seg til antistoffet. Når systemet når likevekt skilles antistoffbundet antigen fra fritt antigen. Dette gjøres ved at radioaktivt kortisol inneholder et radioaktivt hydrogenatom ( $^3\text{H}$ ) som avgir  $\beta$ -stråling, noe som muliggjør kvantifisering av radioaktivt antistoffbundet kortisol ved hjelp av en scintillasjonsteller (Tri-Carb 2900 TR; PerkinElmer, Illinois) som måler  $\beta$ -strålingen.

En standardkurve laget av fortyninger av en standardløsning med kjent mengde kortisol samt kjent mengde radioaktivt kortisol er nødvendig for beregning av ukjent mengde kortisol. Kurven viser den prosentvise mengden radioaktivt kortisol som bindes til antistoffet ved forskjellige konsentrasjoner av ikke-radioaktivt kortisol. Standardkurven muliggjør derfor beregning av prøvens mengde med ukjent kortisol. Siden mengden antistoffbundet radioaktivt kortisol er inverst proporsjonal med konsentrasjonen av antigen i prøven kan den detekterte strålingen leses av mot kurven, og man kan lese av mengde ukjent kortisol i prøven. Det er kun prøver som faller innenfor den lineære delen av standardkurven som er gyldige for beregning av ukjent mengde kortisol. Hvis prøven faller utenfor den lineære delen, som regel fordi den ukjente kortisolkonsentrasjonen i den er for høy, må den fortynnes til den faller innenfor denne delen i et nytt essay.

Totalt ble 100 prøver (20 fisk fra hver sampling) analysert. Den nedre deteksjonsgrensen for kortisol i prøvene var 0,9 ng/ml. For fullstendig framgangsmåte av RIAen, se vedlagt protokoll (vedlegg 7.1). Protokollen er utviklet på bakgrunn av etablerte protokoller for steroider, deriblant kortisol (Schulz, 1985), tilpasset kortisol hos røye (Jørgensen *et al.*, 2002) og validert av Tveiten *et al.* (2010). Høyest tillatte variasjonskoeffisient (CV), som er definert ved  $\frac{SD}{Gj. snitt} \times 100$ , og angir spredning av data rundt gjennomsnittet ( $SD$  = standardavvik;  $Gj. snitt$  = gjennomsnitt), ble satt til 10 % for prøver i RIAen. Eventuelle prøver med CV over 10 % ble analysert på nytt. Inter- og intra-assay CV for kortisolassayet var på henholdsvis 12,3 % og 4,0 %.

## 2.7.2 Leverenzymmer, leverprotein og leverglykogen

Én av leverbitene ble brukt til å analysere leverenzymmer, -protein og -glykogen. Dette ble gjort på 100 prøver (alle samplinger, 20 fisk fra hver sampling) for leverprotein og -glykogen, og på 60 prøver for leverenzymmer (sampling 25.03, 06.05 og 17.06, 20 fisk fra hver sampling).

Cirka 100 mg levervev ble tatt ut, homogenisert (Pellet pestle motor; Kimble/Kontes, Vineland, New Jersey) og sonikert (Vibra cell; Sonics & Materials Inc., Danbury, Connecticut). Denne prosessen foregikk med prøvene nedkjølt til 0 °C på is. Homogenatet ble deretter ekstrahert og delt i tre prøver på 10, 100 og 80 µL, som deretter ble frosset på -80 °C for senere analyse av henholdsvis protein, enzymaktivitet og glykogen.

Leverproteinmengden ble bestemt ved å bruke "BCA Protein Assay Reagent Kit" (Pierce # 23227; Pierce Chemical Company, Rockford, Illinois) som baserer seg på metoden utviklet av Lowry *et al.*, (1951). Metoden går ut på at en alkalisk løsning, som blant annet inneholder kobbersulfat, tilsettes ekstraktet for proteinanalyse.  $\text{Cu}^{2+}$  ioner i denne løsningen vil reduseres til  $\text{Cu}^+$  og graden av reduksjon er proporsjonal med proteinmengden i prøven.  $\text{Cu}^+$  mengden ble beregnet ved spektrofotometri ved 562 nm (SpectraMax® Plus 384; Molecular Devices, Inc., Sunnyvale, California) og lest av mot en på forhånd laget standardkurve med en proteinstandard som gjennomgikk samme prosedyre som prøvene.

Enzymaktiviteten ble bestemt ved å følge metodene beskrevet av Aas-Hansen *et al.*, (2005b). For måling av leverenzymaktivitet ble homogenatprøven tilsatt 50 mM imidazolbuffer (pH 7,5) og 200 µL med nødvendige cofaktorer (se under) i en mikroplatebrønn. Volumet i brønnene tilsvarte da 240 µL. Enzymaktiviteten ble målt i 20 minutter med kontinuerlig spektrofotometri ved 340 nm og 22 °C ved hjelp av en mikroplateleser (SpectraMax® Plus 384; Molecular Devices, Inc., Sunnyvale, California). Denne målingen representerte blankprøven. Etter målingen ble 10 µL substrat tilsatt, og en ny måling gjennomført. Tidsperioden som representerte den mest lineære delen av kurven for enzymaktivitet for alle prøvene for det aktuelle enzymet ble deretter valgt og brukt for å beregne enzymets aktivitet, da denne delen av kurven representerer enzymets maksimale aktivitet.

Følgende enzymer ble analysert: alanin aminotransferase (Ala-AT; EC 2.6.1.2), aspartat aminotransferase (Asp-AT; EC 2.6.1.1), glukose-6-fosfat dehydrogenase (G6PDH; EC

1.1.1.49), 3-hydroksyacyl-coenzym A dehydrogenase (HOAD; EC 1.1.1.35), laktat dehydrogenase (LDH; EC 1.1.1.27), fosfoenolpyruvat karboksykinase (PEPCK; EC 4.1.1.32) og pyruvat kinase (PK; EC 2.7.1.40).

Følgende forhold ble brukt under analysene: *Ala-AT*: 0,24 mM NADH, 200 mM L-alanin, 0,025 mM pyridoxalfosfat, 12 enheter L-laktat dehydrogenase, 10,5 mM  $\alpha$ -ketoglutarat. *Asp-AT*: 0,24 mM NADH, 7 mM  $\alpha$ -ketoglutarat, 0,025 mM pyridoxalfosfat, 8 enheter malat dehydrogenase, 40 mM aspartat. *G6PDH*: 8,75 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,5 mM NADP, 1 mM glukose-6-fosfat. *HOAD*: 0,0625 mM NADH, 0,05 mM acetoacetyl coenzym A. *LDH*: 0,12 mM NADH, 1 mM pyruvat. *PEPCK*: 0,12 mM NADH, 0,5 mM fosfoenolpyruvat, 1 mM MnCl<sub>2</sub>, 20 mM NaHCO<sub>3</sub>, 0,2 mM deoxyguanosin difosfat. *PK*: 0,24 mM NADH, 30 mM KCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 2,5 mM ADP, 5 enheter L-laktat dehydrogenase, 2,5 mM fosfoenolpyruvat.

Leverglukoseinnholdet ble bestemt ved å bruke et glukosekit (Randox, GL 1611). Denne metoden går ut på å bryte ned glukose ved hjelp av enzymatiske reaksjoner, og måle absorbansen til produktet nikotinamid adenin dinukleotid (NADH) ved hjelp av spektrofotometri ved 340 nm i en mikroplateleser (SpectraMax® Plus 384; Molecular Devices, Inc., Sunnyvale, California). Absorbansen leses så av mot en standardkurve av forskjellige kjente glukosekonsentrasjoner (mM), laget av en glukosestandard, som har gjennomgått den samme nedbrytingen. Glukosen brytes først ned til glukose-6-fosfat ved hjelp av enzymet heksokinase, i en løsning med et overskudd av ATP. Glukose-6-fosfat brytes så ned til glukonat-6-fosfat og NADH produseres ved hjelp av glukose-6-fosfat dehydrogenase og et overskudd av NAD<sup>+</sup>.

Plasmaglukosekonsentrasjonen ble bestemt etter samme prinsipp og med samme kit som leverglukoseinnholdet, og ble uttrykt i mM.

Leverglykogeninnholdet ble bestemt ved å følge prinsippet til Keppler & Decker (1974). Metoden går ut på å bryte ned glykogen til glukose ved hjelp av enzymet amyloglukosidase. Deretter bestemmes glukosemengden som for leverglukose. Mengden glukose frigitt etter nedbrytingen av glykogen vil være proporsjonal til økningen av NADH. Glykogeninnholdet i lever uttrykkes deretter som differansen mellom verdien av leverglykogen brutt ned til glukose og verdien av leverglukose i den samme leverprøven før nedbrytning. Glykogeninnholdet var uttrykt som  $\mu\text{mol/ml}$  (mM). Dette ble regnet om til total mengde glukosyliske enheter ( $\mu\text{mol}$ )

i lever ved å ta hensyn til levervekten og volumet av homogenatet glykogeninnholdet ble beregnet i. Dette ble så multiplisert med glukoses molekylvekt i g/ $\mu$ mol for å finne total mengde leverglykogen i mg.

Protokollene som ble brukt til bestemmelse av leverprotein-, leverenzym-, leverglukose- og leverglykogeninnhold samt plasmaglukosekonsentrasjon er vedlagt (vedlegg 7.2, 7.3 og 7.4). Høyest tillatte variasjonskoeffisient (CV) ble satt til 10 % for alle disse analysene. Eventuelle prøver med CV over dette ble analysert på nytt. Prøvene til glykogen- og glukoseanalysene ble kjørt i duplikater, prøvene til enzymanalysene i triplikater. Under etableringen av metoden for enzymanalysene ble både inter- og intraessay CV undersøkt. Disse lå henholdsvis under 10 % og under 5 %.

### **2.7.3 Kroppssammensetning (kroppsfett, -aske, -protein og vanninnhold)**

For kroppsanalyse ble det tatt prøve av hel fisk, det vil si innvoller (utenom lever), muskel, og hode. Analysen ble gjort på 100 fisk (20 fra hver sampling). Prøven ble homogenisert ved å males tre ganger i en kjøttkvern (Forniture SIRMAN, Italia). Homogenatet ble så frosset ned, og senere tint opp igjen for uttak av cirka 10 gram homogenat til videre analyse. Prøvene ble veid til nærmeste 0,1 g på en analysevekt (BP 4100; Sartorius, Tyskland), og analysert som beskrevet av Johansen *et al.*, (2001). Prøvene ble lagt i på forhånd veide former laget av aluminium. Prøver og folieformer ble så veid, og deretter tørket i varmeskap ved 105 °C i 24 timer. I tillegg ble ekstraksjonshylser (Pyrex glasshylser) tørket i varmeskapet i 24 timer. Deretter ble hylsene og prøver med folie tatt ut av varmeskapet og veid hver for seg, før prøvene med folie ble plassert i hylsene og veid på nytt. Ekstrahering ble så gjennomført i en Behrotest ® TRS 200 (A/S Pihl, Sverige) med petroleumseter, kokepunkt 40-60 °C (Merck KGaA, Tyskland) i 1,5 – 2 timer. Temperaturen på varmeblokk holdt konstant 85 °C. Etter endt ekstraksjon ble hylsene med prøver og folie tørket i varmeskap ved 105 °C i 24 timer. Etter endt tørking ble hylsene veid. Fettinnholdet kunne beregnes ved å beregne differansen mellom prøvevekt før og etter fett ekstraksjon, og deretter regne ut fettinnholdet som en prosent av prøvens våtvekt og til slutt som en prosent av fiskens våtvekt.

Etter veiing ble hylsene med fett ekstraherte prøver satt i forbrenningsovn ved 500 °C i 12 timer. Etter forbrenning ble hylsene veid på nytt, og askevekt tilsvarte prøvevekt etter forbrenning. Vanninnholdet ble regnet ut som differansen mellom prøvens våtvekt og

tørrvekt. Vanninnholdet ble så regnet ut som en prosent av prøvens og deretter fiskens våtvekt. Mengden kroppsprotein ble regnet ut ved å trekke fettinnhold i tørrvekt og askeinnhold i tørrvekt fra tørrvektprøve. Proteininnholdet ble deretter regnet ut som en prosent av prøvens våtvekt og til slutt som en prosent av fiskens våtvekt. Da proteininnholdet ikke er en målt mengde, ble det ikke utført statistisk analyse på de beregnede proteinverdiene.

## **2.8 Databehandling og statistikk**

### **2.8.1 Statistiske analyser**

De statistiske analysene ble utført med Systat 13 (Systat Software, Inc., Chicago) eller ved manuelle beregninger i Microsoft Excel 2003. Figurer er laget i de samme programmene.

For hvert datasett ble det testet for normalfordeling. Det ble gjort en skjønnsmessig vurdering om hvorvidt datasettet var normalfordelt eller ikke på bakgrunn av tre forskjellige normalitetstester (Kolmogorov-Smirnov Test, Shapiro-Wilk Test, og Anderson-Darling Test), samt et residual plot. Datasettene for plasma kortisol, HSI, leverglykogen, og tre av de sju leverenzymene (Ala-AT, PEPCK, og PK) ble logtransformert før statistisk testing ble gjort. Logtransformeringen ble foretatt for å oppnå normalfordeling.

### **2.8.2 Samplet fisk**

For testing av de avhengige variablene plasmaglukose, plasmakortisol, HSI, leverglykogen, og leverenzymene, ble det benyttet ANOVA (ANalysis Of VAriance). Dette for å teste om det var signifikante forskjeller mellom behandlingsgrupper, mellom kar innen hver behandling, mellom undergrupper innen behandlingsgruppe fôr, og forskjeller som følge av tid. Ved signifikante forskjeller ble ANOVA videre benyttet til testing av effekter av tid innen hver behandling, og til testing av forskjeller mellom behandlingsgrupper eller undergrupper ved hvert tidspunkt.

Kroppssammensetningsdataene forelå som prosentverdier, og ble derfor arcsintransformert før de ble testet statistisk. Deretter ble det kjørt ANOVA på hver enkelt kroppsparameter for å eventuelt avdekke forskjeller som følge av tid, behandling, eller undergrupper innen behandlingsgruppen fôr.

### 2.8.3 Statister

For fisk som gikk igjennom hele forsøksperioden (statistene) ble det kjørt en Repeated Measure ANOVA på de avhengige variablene vekt, lengde, kondisjonsfaktor og TGC. Ved signifikante forskjeller med hensyn til variabelen tid ble det kjørt en post hoc test for Repeated Measures med Bonferroni justering. Ved en Bonferroni justering ble signifikansnivået ( $P < 0,05$ ) delt på antall ganger den avhengige variabelen var blitt målt. Ved signifikante forskjeller med hensyn til variabelen undergruppe innen behandling fôr ble to og to undergrupper sammenlignet for å avdekke forskjeller, og det ble foretatt en manuell Bonferroni justering. For data ved forsøksstart ble det kjørt ANOVA for å se etter signifikante forskjeller mellom undergruppene. I tillegg ble undergruppe 5 og behandlingsgruppe sult sammenlignet, men kun for variabelen TGC.

På kjønnsmodningsdata registrert ved visuell inspeksjon den 17.08 ble det foretatt en Chi-square test for å se på eventuelle signifikante forskjeller i andel kjønnsmodning mellom fisk i behandlingsgruppene, og mellom fisk i undergruppene innen behandlingsgruppe fôr. Chi-square testen brukes ofte i analyser av kategoriske data, hvor observerte og forventede (teoretiske) frekvenser i kategorier sammenlignes:  $\sum \frac{(o - e)^2}{e}$ .  $o$  og  $e$  står for henholdsvis observerte og forventede frekvenser innen hver kategori eller i kombinasjon av flere kategorier, og  $\Sigma$  står for summeringen av alle kategoriene. Nullhypotesen i Chi-square testen sier at ett sett av observasjoner kommer fra en populasjon hvor de observerte frekvensene ikke er forskjellige fra de forventede frekvensene. Chi-square testen forutsetter at ikke mer enn 20 % av verdiene er under tallverdien 5 (Quinn & Keough, 2002). For å oppfylle dette kravet ble undergruppene slått sammen, slik at undergruppe 1 og 2 dannet en gruppe, undergruppe 3 og 4 dannet en gruppe, og undergruppe 5 ble stående som en gruppe. For å fastslå eventuell signifikant forskjell ble metoden beskrevet i Sæther (1995) fulgt. Hvis det viste seg å være signifikante avvik mellom observerte og forventede frekvenser, ble en gruppe tatt bort, og testen kjørt på nytt. Hvis man ved andre gangs testing ikke fant signifikante avvik, ble de to gjenværende gruppene slått sammen, og testet mot gruppen som ble utelatt ved første gangs testing. Hvis testen nå kom ut signifikant, kunne man forkaste nullhypotesen og fastlå en signifikant forskjell mellom den ene gruppen mot resten av gruppene.

## 2.8.4 Signifikansnivå og symbolbruk

Under de statistiske analysene ble et signifikansnivå på  $P < 0,05$  ansett som tilfredsstillende. For analysene med Bonferroni justering ble signifikansnivået satt til  $P < 0,01$ . Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom datoer for den aktuelle parameteren, med et unntak; for Repeated Measures analyser på vekt, lengde, og kondisjonsfaktor i behandlingsgruppen før indikerer forskjellige bokstaver signifikant forskjell mellom undergrupper med bakgrunn i hele forsøksperioden. \*/\*\*/\*\* indikerer signifikant forskjell mellom behandlingsgrupper eller undergrupper ved den angitte dato ( $P < 0,05/0,01/0,001$ ). Alle data i tekst og tabeller er presentert som gjennomsnittsverdier  $\pm$  standard avvik, og alle data i figurer er presentert som gjennomsnittsverdier  $\pm$  standard feil.

## 2.8.5 Repeated measure - forutsetninger

Repeated measure analysen ble gjort på bakgrunn av gjentatte målinger på samme individer (statister) gjennom hele forsøksperioden. Ettersom vi gjorde fem uttak av fem fisk fra hvert kar under forsøksperioden, kan man si at karforholdene ble endret underveis. En generell forutsetning for bruk av Repeated measure analysen er at forsøksbetingelsene ikke skal endres underveis i forsøksperioden (Quinn & Keough, 2002). Vi anser likevel forholdene i karene for å ha vært tilnærmet like gjennom hele forsøksperioden. Ved den andre målingen (15.04) opplevde statistene ingen endring i karforhold i perioden i forkant. Dette betyr at det kun er for de tre siste målingene at karforholdene har blitt endret underveis. I tillegg er den totale biomasseendringen som følge av uttakene liten.

## 2.8.6 Arcsintransformering

På kroppssammensetningsdata ble prosentverdiene av kroppsparemetere arcsintransformert før de ble testet statistisk. Arcsintransformeringen er en vanlig transformeringsmetode på prosentdata. Transformeringen flytter veldig høye, eller veldig lave prosentverdier nærmere et midtpunkt, noe som gir dem større teoretisk frihetsgrad (Sokal & Rohlf, 1981). Formelen som ble brukt under transformeringen er  $\sin^{-1} \sqrt{\frac{Y}{100}}$ , der Y er en prosentverdi mellom 0 og 100.

### 2.8.7 Korrelasjonsmodeller

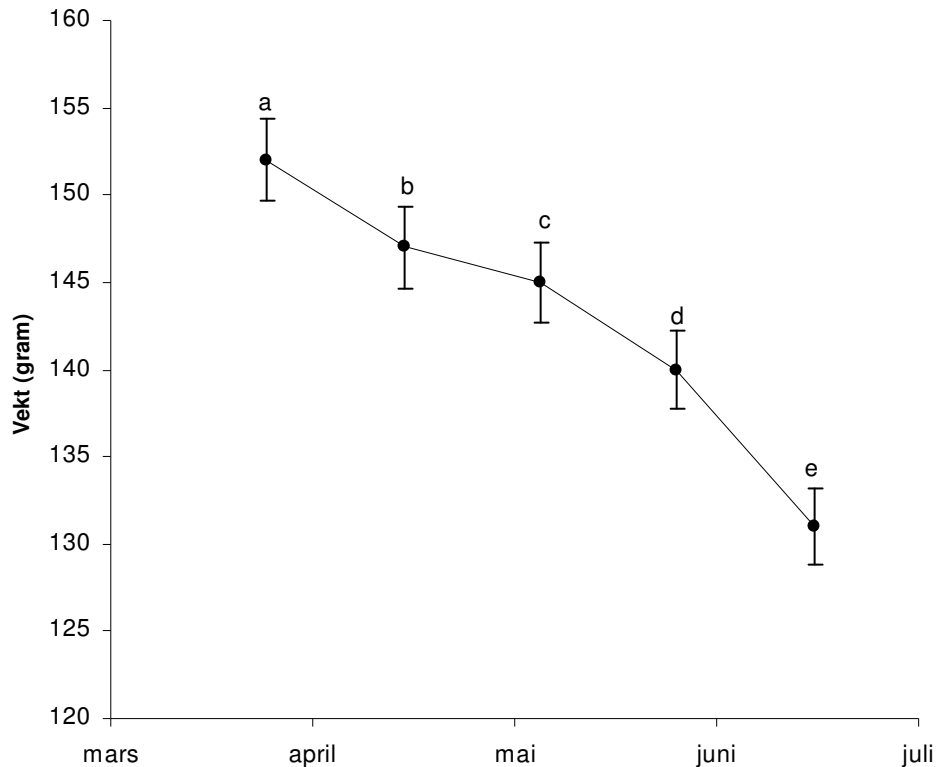
En 'minste kvadraters analyse' ble kjørt for å teste på en eventuell korrelasjon mellom fettinnhold og vanninnhold samt fettinnhold og kondisjonsfaktor hos samplet fisk i begge behandlingsgruppene. En slik analyse ble også kjørt for å teste for en eventuell korrelasjon mellom plasmakortisol og plasmaglukose. Analysen lager en lineær regresjonslinje som minimerer distansen fra punktene i diagrammet til regresjonslinjen. Korrelasjonskoeffisienten,  $R^2$ , sier noe om styrken av korrelasjonen mellom de to variablene. En  $R^2$ -verdi nært 1 vil indikere en sterk korrelasjon mellom variablene, mens en  $R^2$ -verdi nært 0 vil indikere en svak eller ingen korrelasjon mellom variablene (Kleinbaum *et al.*, 2007). Hvis  $P < 0,05$ , forteller det at korrelasjonen er statistisk signifikant, men man må altså ta  $R^2$  med i betraktning når man vurderer styrken til korrelasjonen mellom variablene.



## 3.0 Resultat

### 3.1 Behandlingsgruppe sult

For behandlingsgruppe sult ble det ikke påvist noen signifikant forskjell mellom replikater for de målte parameterne. Replikatene er derfor slått sammen i presentasjonen av resultatene.

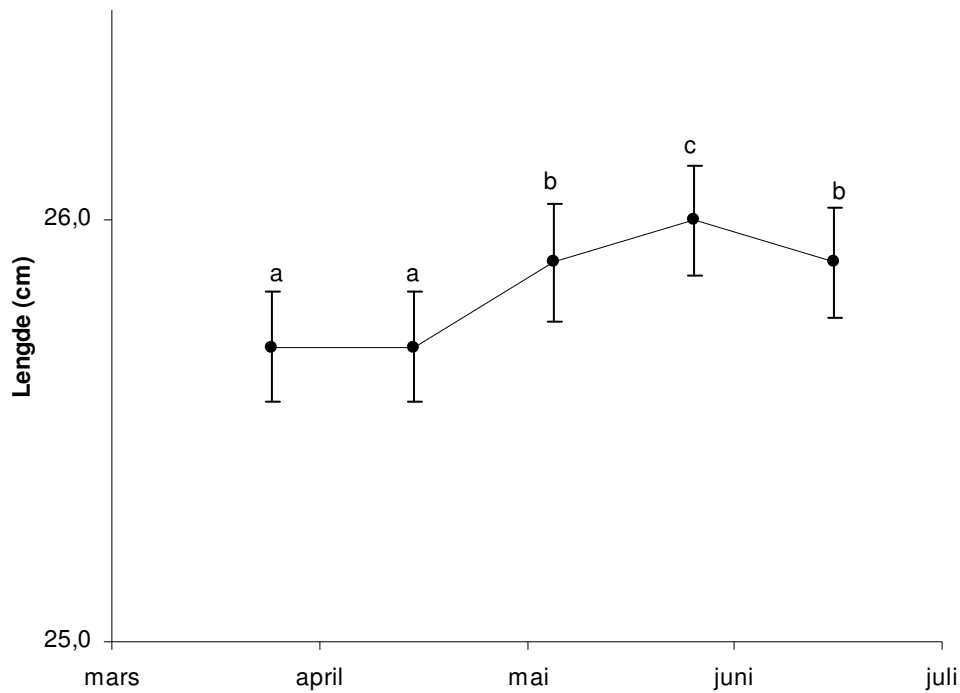


**Figur 1. Kroppsvekt (snitt ± standardfeil) for individer av anadrom røye av behandlingsgruppe sult. Dette var individer som fulgte hele forsøket, uten å bli tatt prøve av (N = 126). Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom datoer.**

Behandlingsgruppe sults vekt ble påvirket av tid ( $F_{4,500} = 759$ ,  $P < 0,001$ ). Det ble påvist signifikant forskjell mellom alle tidspunkter. Gjennomsnittsvekten ble redusert fra  $152 \pm 26$  gram til  $131 \pm 24$  gram i løpet av forsøksperioden (figur 1 og vedlegg 7.5). Reduksjonen virket å være raskere i siste halvdel av forsøket sammenliknet med første halvdel.

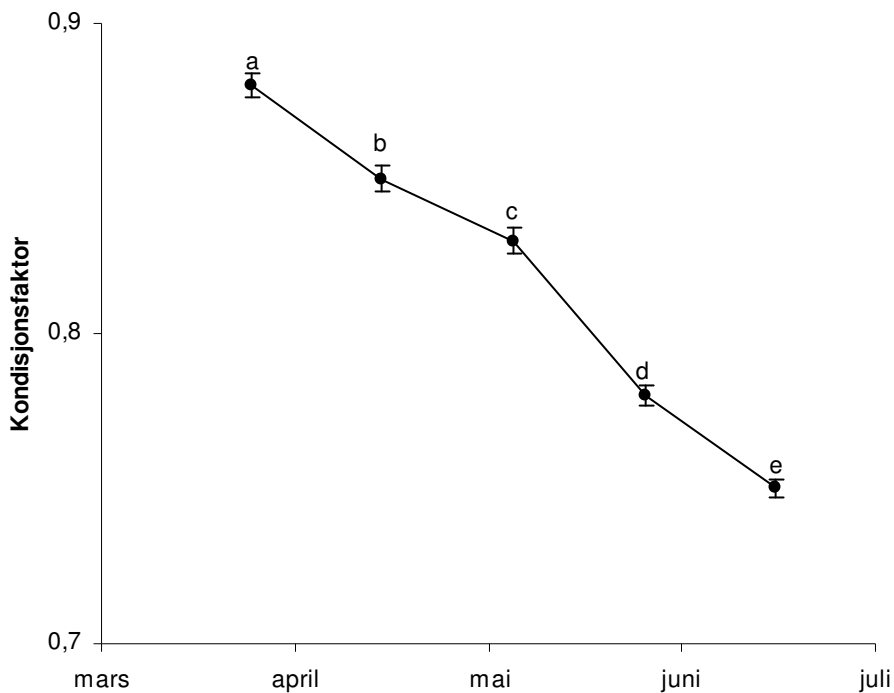
Etter selve forsøksperioden var avsluttet, ble fisken i denne behandlingsgruppen tilbydd fôr. I løpet av en treukers periode etter forsøksslutt hadde 87 % av de undersøkte fiskene (N = 95) en vektøkning. I løpet av den neste treukers perioden viste alle de resterende fiskene en vektøkning, med unntak av ett individ. Ved siste observasjonspunkt den 17.08 viste 11,5 % av

de undersøkte fiskene (10 av 87) morfologiske tegn på kjønnsmodning. Gjennomsnittsvekten til de undersøkte fiskene var da  $321 \pm 59$  gram.



**Figur 2. Kroppslengde (snitt  $\pm$  standardfeil) for individer av anadrom røye av behandlingsgruppe sult. Dette var individer som fulgte hele forsøket, uten å bli tatt prøve av (N = 126). Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom datoer.**

Behandlingsgruppe sults lengde ble påvirket av tid ( $F_{4,500} = 41$ ,  $P < 0,001$ ). Det ble påvist en signifikant forskjell mellom enkelte tidspunkter (figur 2). Gjennomsnittslengden økte fra  $25,7 \pm 1,5$  cm til  $25,9 \pm 1,5$  cm i løpet av forsøksperioden (figur 2).



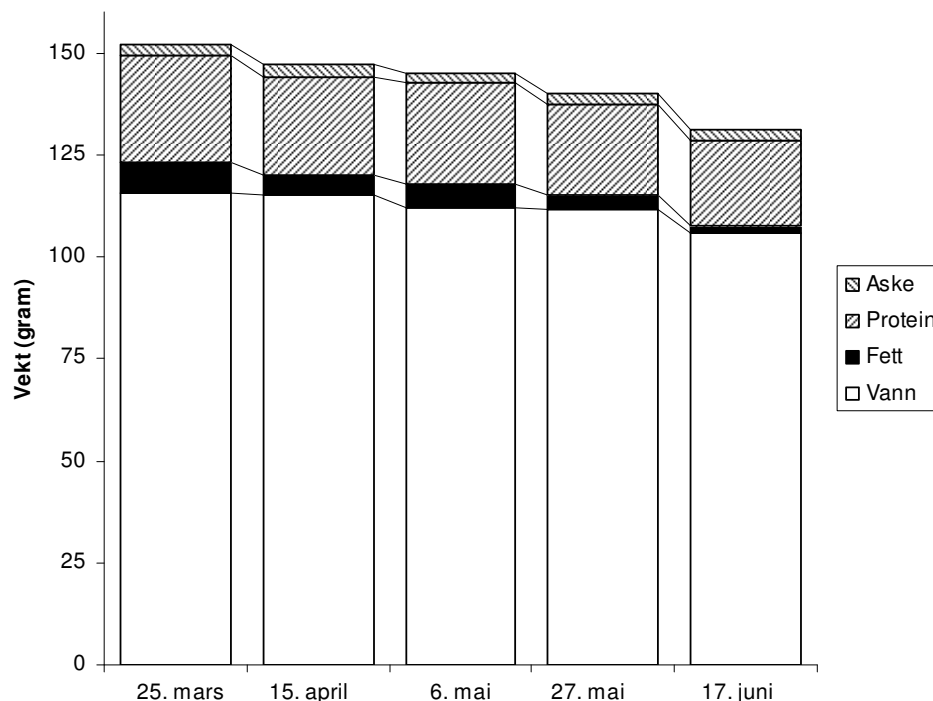
**Figur 3. Kondisjonsfaktor (snitt ± standardfeil) for individer av anadrom røye av behandlingsgruppe sult. Dette var individer som fulgte hele forsøket, uten å bli tatt prøve av (N = 126). Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom datoer.**

Behandlingsgruppe sults kondisjonsfaktor ble påvirket av tid ( $F_{4,500} = 708$ ,  $P < 0,001$ ). Det ble påvist signifikant forskjell mellom alle tidspunkter. Gjennomsnittskondisjonsfaktoren ble redusert fra  $0,88 \pm 0,04$  til  $0,75 \pm 0,04$  i løpet av forsøksperioden (figur 3).

**Tabell 1. Prosentvis kroppssammensetning for uttatt fisk av behandlingsgruppe sult. N = 10 ved hver dato. Presenterte verdier er snitt ± standardavvik. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom datoer for den aktuelle parameteren.**

	25. mars	15. april	6. mai	27. mai	17. juni
Fett	4,84 <sup>a</sup> ± 1,73	3,50 <sup>ab</sup> ± 1,71	3,77 <sup>ab</sup> ± 1,99	2,60 <sup>b</sup> ± 1,79	1,25 <sup>c</sup> ± 1,21
Vann	76,10 <sup>a</sup> ± 1,66	78,19 <sup>bc</sup> ± 2,39	77,35 <sup>ab</sup> ± 1,75	79,62 <sup>cd</sup> ± 1,93	80,73 <sup>d</sup> ± 1,45
Aske	1,84 <sup>a</sup> ± 0,56	2,05 <sup>a</sup> ± 0,55	1,64 <sup>a</sup> ± 0,45	2,03 <sup>a</sup> ± 0,55	1,92 <sup>a</sup> ± 0,78
Protein (rest)	17,23 ± 0,49	16,27 ± 1,36	17,23 ± 0,73	15,75 ± 0,70	16,11 ± 0,87

Analyser av kroppssammensetningen for uttatt fisk fra behandlingsgruppe sult viste en signifikant reduksjon i prosent kroppsfett og en signifikant økning av prosent vanninnhold gjennom forsøksperioden (tabell 1).



**Figur 4. Vektutvikling og endring i kroppssammensetning for fisk av behandlingsgruppe sult som fulgte hele forsøket (N = 126). Vekt er gjennomsnittsvikt fra figur 1 og kroppssammensetning er beregnet ut ifra data i tabell 1.**

Figur 4 illustrerer behandlingsgruppe sults gjennomsnittlige reduksjon i vekt og dens endring i kroppssammensetning gjennom forsøksperioden. Det er beregnet et gjennomsnittlig forbruk av fett på 5,7 g, tilsvarende 217 kJ, og et forbruk på 5,1 g protein, tilsvarende 120 kJ, fra start til slutt av forsøket (beregnet ved å bruke forbrenningskoeffisienter: 38 kJ/g fett og 23,6 kJ/g protein fra Jobling (1994)). Energibidraget fra fett var dermed ca 1,8 ganger høyere enn fra proteiner. Første halvdel av forsøket var bidraget fra fett 1,9 g (72 kJ), mens proteiner bidro med 1,2 g (28 kJ), totalt 100 kJ. Samtidig sto vann for 3,5 gram av vekttapet.

**Tabell 2. Forholdet mellom mobiliseringen av fett og proteiner (i gram), samt forholdet mellom vekttap i form av vann og det totale vekttapet i første og siste halvdel av forsøket. Beregnet ved å bruke gjennomsnittsvikt fra figur 1 og kroppssammensetning fra tabell 1.**

	Fett : protein	Vann : vekt
25.03-06.05	1,58	0,53
06.05-17.06	0,97	0,45
Totalt	1,12	0,48

Andre halvdel var bidraget høyere; fett bidro da med 3,8 g (145 kJ) og proteiner 3,9 g (92 kJ), totalt 237 kJ. I denne perioden sto vann for 6,4 gram av vekttapet. Vann sto dermed for en stor andel av det totale vekttapet gjennom hele forsøksperioden (tabell 2).

**Tabell 3. Leverdata for behandlingsgruppe sult. N = 10 ved hver dato. Presenterte verdier er snitt ± standardavvik. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom datoer for den aktuelle parameteren.**

	25. mars	15. april	6. mai	27. mai	17. juni
Hepatosomatisk indeks (HSI)	1,25 <sup>a</sup> ± 0,21	1,11 <sup>ab</sup> ± 0,22	1,13 <sup>a</sup> ± 0,07	1,17 <sup>a</sup> ± 0,10	1,03 <sup>b</sup> ± 0,14
Lever-glykogen (mg)	47,92 <sup>a</sup> ± 28,57	40,90 <sup>a</sup> ± 34,09	31,50 <sup>a</sup> ± 9,29	11,08 <sup>b</sup> ± 7,00	4,59 <sup>c</sup> ± 2,61

**Tabell 4. Leverenzymkapasitet for behandlingsgruppe sult. N = 10 ved hver dato. Presenterte verdier er snitt ± standardavvik. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom datoer for den aktuelle parameteren. U = µmol/min/g protein, L = levervekt, K = kroppsvekt.**

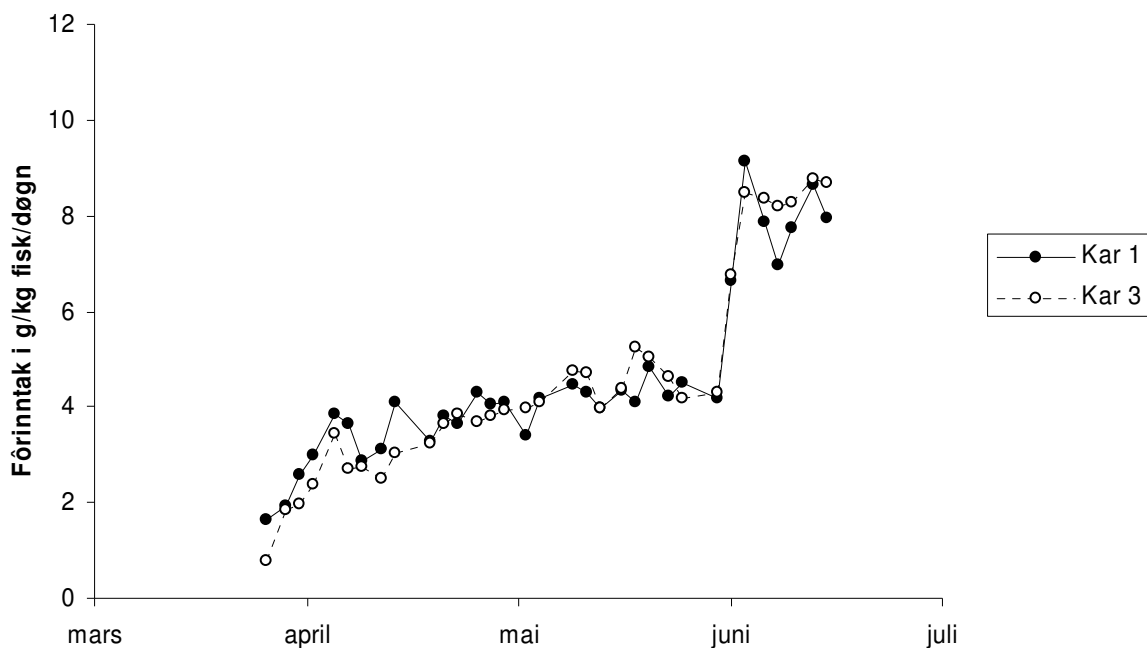
	25. mars	6. mai	17. juni
Ala-AT (U x L/K)	21,58 <sup>a</sup> ± 6,28	21,76 <sup>a</sup> ± 5,10	18,61 <sup>a</sup> ± 4,67
Asp-AT (U x L/K)	10,33 <sup>a</sup> ± 1,92	10,09 <sup>a</sup> ± 2,28	8,27 <sup>a</sup> ± 2,21
G6PDH (U x L/K)	5,17 <sup>a</sup> ± 1,29	3,92 <sup>a</sup> ± 1,06	2,48 <sup>b</sup> ± 0,82
HOAD (U x L/K)	0,48 <sup>a</sup> ± 0,08	0,45 <sup>a</sup> ± 0,05	0,33 <sup>b</sup> ± 0,08
LDH (U x L/K)	51,45 <sup>a</sup> ± 13,05	49,60 <sup>a</sup> ± 4,59	35,44 <sup>b</sup> ± 6,21
PEPCK (U x L/K)	0,19 <sup>a</sup> ± 0,05	0,19 <sup>a</sup> ± 0,06	0,16 <sup>a</sup> ± 0,05
PK (U x L/K)	0,78 <sup>a</sup> ± 0,21	0,91 <sup>a</sup> ± 0,16	0,61 <sup>a</sup> ± 0,25

Data for leveren viste en signifikant reduksjon hos uttatt fisk for flere av parameterne i løpet av forsøksperioden. Reduksjonen var veldig tydelig med tanke på leverglykogenlagrene, med en betydelig reduksjon i løpet av forsøket, da særlig i siste halvdel av forsøksperioden (tabell 3). Det er beregnet et individuelt forbruk på 43 mg, tilsvarende 0,7 kJ, leverglykogen fra start til slutt av forsøket (beregnet med å bruke forbrenningskoeffisienten 16,7 kJ/g karbohydrat fra Miglavs & Jobling (1989)). Enzymer som har å gjøre med fettsyresyntese (G6PDH) og fettsyreoksidasjon (HOAD), hadde en signifikant reduksjon i aktivitet gjennom forsøket. Leverkapasiteten av enzymer som er sentrale med tanke på glukoneogenesen (LDH, Ala-AT, Asp-AT og PEPCK) hadde en trend til å nedreguleres, selv om denne ikke var signifikant for flere av dem (Ala-AT, Asp-AT og PEPCK; tabell 4).

### 3.2 Behandlingsgruppe fôr

Gjennomsnittsvakta for individer innen behandlingsgruppe fôr økte fra  $156 \pm 29$  gram (CV = 19 %) til  $236 \pm 117$  gram (CV = 50 %) i løpet av forsøksperioden (N = 120). Den kraftige økningen i CV fra forsøksstart til –slutt illustrerer en stor heterogenitet i vektutviklingen innen denne behandlingsgruppen.

Fôrinntak (figur 5) og feed conversion ratio (FCR; tabell 5) vil la seg påvirke av denne heterogeniteten, med en betydelig usikkerhet knyttet til de beregnede tallene siden de er beregnet ut ifra en gruppe der enkelte individer spiste og økte i vekt, mens andre tapte vekt.



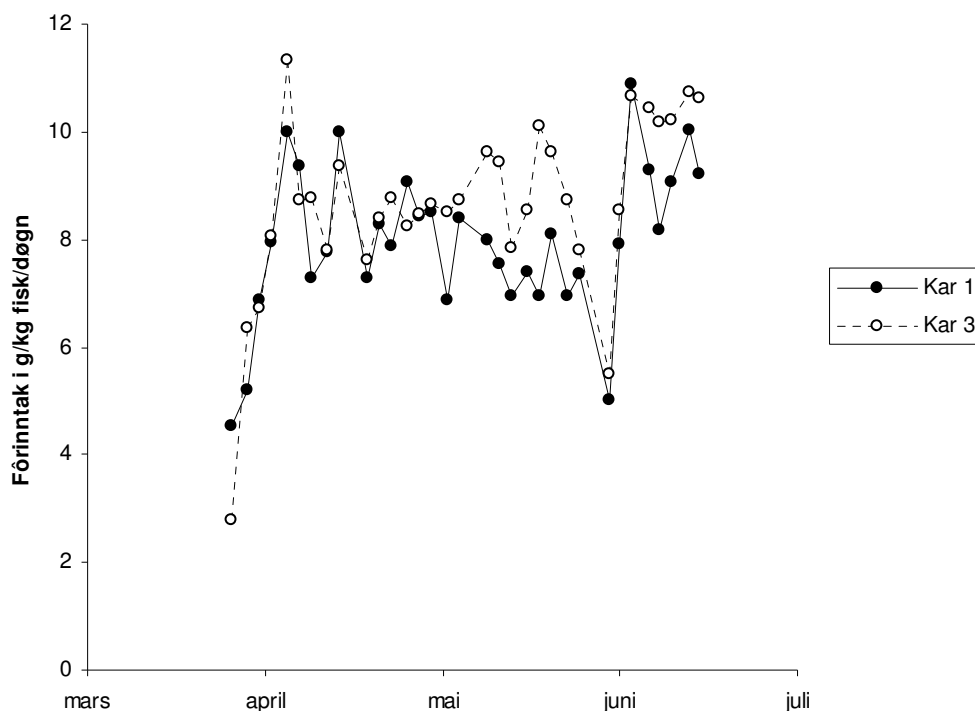
**Figur 5.** Fôrinntak hos to replikater, kar 1 og 3, av behandlingsgruppe fôr. Beregnet på bakgrunn av biomassen til alle individer (N 25.03-15.04 = 160, 15.04-06.05 = 150, 06.05-27.05 = 140 og 27.05-17.06 = 130).

Fôrinntaket (figur 5) og FCR (tabell 5) er presentert karvis. Fôrinntaket og FCR for de to karene fulgte samme trend gjennom hele forsøksperioden. Det var en rask økning av fôrinntak i starten av forsøket, så en jevn, men svakere økning og deretter en dobling i fôrinntak fra starten av juni (4 g/kg fisk/døgn) til siste sampling (17.06) hvor fôrinntaket var 8 g/kg fisk/døgn (figur 5). FCR varierte mellom 0,6 og 1,4 gjennom forsøket (tabell 5).

**Tabell 5. Karvis fordeling av feed conversion ratio (FCR) for behandlingsgruppe fôr. Beregnet på bakgrunn av biomassen til alle individer (N tilsvarende det oppgitt i figur 5).**

Kar	25.03-15.04	15.04-06.05	06.05-27.05	27.05-17.06
1	0,61	1,18	0,46	1,37
3	0,58	1,28	0,73	1,22

På grunn av den store heterogeniteten i gruppa ble fôrinntaket og FCR beregnet på nytt, på bakgrunn av undergruppeinndelingen av behandlingsgruppe fôr. Det vil si at kun fisk som viste en vektøkning dannet grunnlag for biomassen (figur 6 og tabell 6).



**Figur 6. Justert fôrinntak hos to replikater, kar 1 og 3, av behandlingsgruppe fôr. Grunnlaget for biomasse er samlet vekt av de individer som viste vektøkning i perioden mellom to samlinger (N 25.03-15.04 = 34, 15.04-06.05 = 43, 06.05-27.05 = 49 og 27.05-17.06 = 82).**

Også for det justerte fôrinntaket fulgte de to karene samme trend gjennom forsøksperioden (figur 6). Det justerte fôrinntaket var høyere enn det ikkejusterte (figur 5), da individer som ikke økte i vekt ble tatt bort fra tallgrunnlaget, inntil de startet å øke i vekt. Det var en hurtig og kraftig økning i fôrinntak i starten av forsøket. Det var også en oppgang i starten av juni, etter en kort periode med en nedgang i inntaket (figur 6). Med unntak av denne korte perioden og den første uken av forsøket, lå det justerte fôrinntaket rundt 8-10 g/kg fisk/døgn gjennom

forsøksperioden. Den justerte FCR var lavest (dårligst) i perioden 06.05-27.05, og høyest i den foregående og etterfølgende perioden (tabell 6).

**Tabell 6. Karvis fordeling av justert feed conversion ratio (FCR) for behandlingsgruppe fôr. Beregnet på bakgrunn av individer som viste vektøkning i perioden mellom to samplinger (N tilsvarende det som er oppgitt i figur 6).**

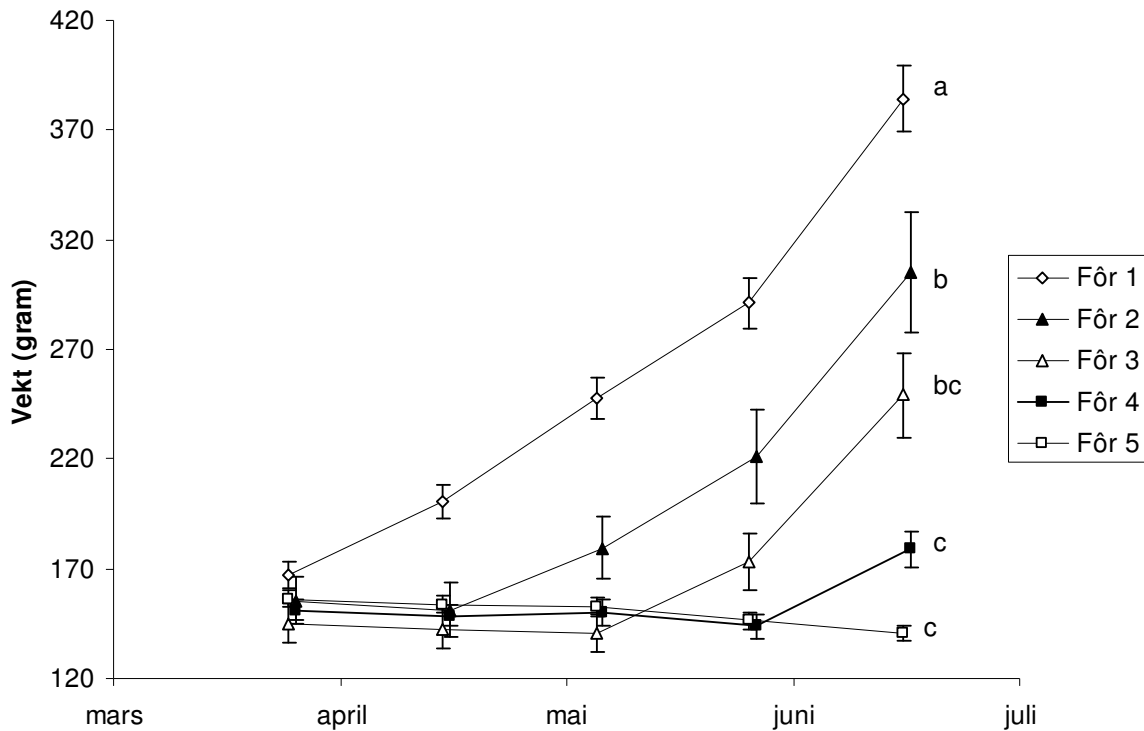
Kar	25.03-15.04	15.04-06.05	06.05-27.05	27.05-17.06
1	1,07	1,26	1,04	1,42
3	1,16	1,31	0,93	1,26

Den karvise fordelinga av fisk innenfor hver undergruppe av behandlingsgruppe fôr ble undersøkt. Denne viste at det var en jevn fordeling av individene innen undergruppene mellom hvert av karene (tabell 7). Både undergruppe 2 og 3 inneholdt relativt få individer, noe som betyr at de fleste fiskene begynte å øke i vekt tidlig eller sent i forsøksperioden, eller hadde en vektreduksjon gjennom hele forsøket. Replikatene er slått sammen i den videre presentasjonen av resultater, men med unntak av plasmakortisol (figur 11).

**Tabell 7. Karvis fordeling av 120 individer i behandlingsgruppe fôr. Gruppen er delt inn i fem undergrupper som representerer hvilket tidsrom individene starter å øke i vekt. Individer i gruppe 1 økte i vekt gjennom hele forsøket, individer i gruppe 5 tapte vekt gjennom hele forsøket. Disse fiskene gikk gjennom hele forsøket uten å bli tatt prøve av.**

Undergruppe	Totalt antall	Kar 1	Kar 3
1	33	16	17
2	10	3	7
3	6	3	3
4	33	17	16
5	38	18	20





**Figur 7. Kroppsvekt (snitt ± standardfeil) for individer av anadrom røye for 5 forskjellige undergrupper av behandlingsgruppe fôr. Dette var individer som fulgte hele forsøket, uten å bli tatt prøve av (undergruppe 1: N = 33, undergruppe 2: N = 10, undergruppe 3: N = 6, undergruppe 4: N = 33, undergruppe 5: N = 38). Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom undergrupper med bakgrunn i hele forsøksperioden.**

Behandlingsgruppe fôrs vekt ble påvirket av undergruppe ( $F_{4,115} = 41$ ,  $P < 0,001$ ), og tid ( $F_{4,460} = 306$ ,  $P < 0,001$ ). Det var signifikante forskjeller i vekt mellom de enkelte undergrupper med bakgrunn i hele forsøksperioden. Ved forsøksstart var det ingen signifikante forskjeller mellom vekten til fisk i undergruppe 1 ( $167 \pm 36$  gram), undergruppe 2 ( $156 \pm 32$  gram), undergruppe 5 ( $156 \pm 25$  gram), undergruppe 4 ( $151 \pm 27$  gram) og undergruppe 3 ( $145 \pm 21$  gram). Gjennomsnittsvekten til undergruppe 1 økte til  $384 \pm 89$  gram, mens den for undergruppe 5 ble redusert til  $141 \pm 23$  gram i løpet av forsøksperioden (figur 7). For hver enkelt undergruppe ble det påvist signifikante forskjeller underveis i forsøksperioden (vedlegg 7.6).

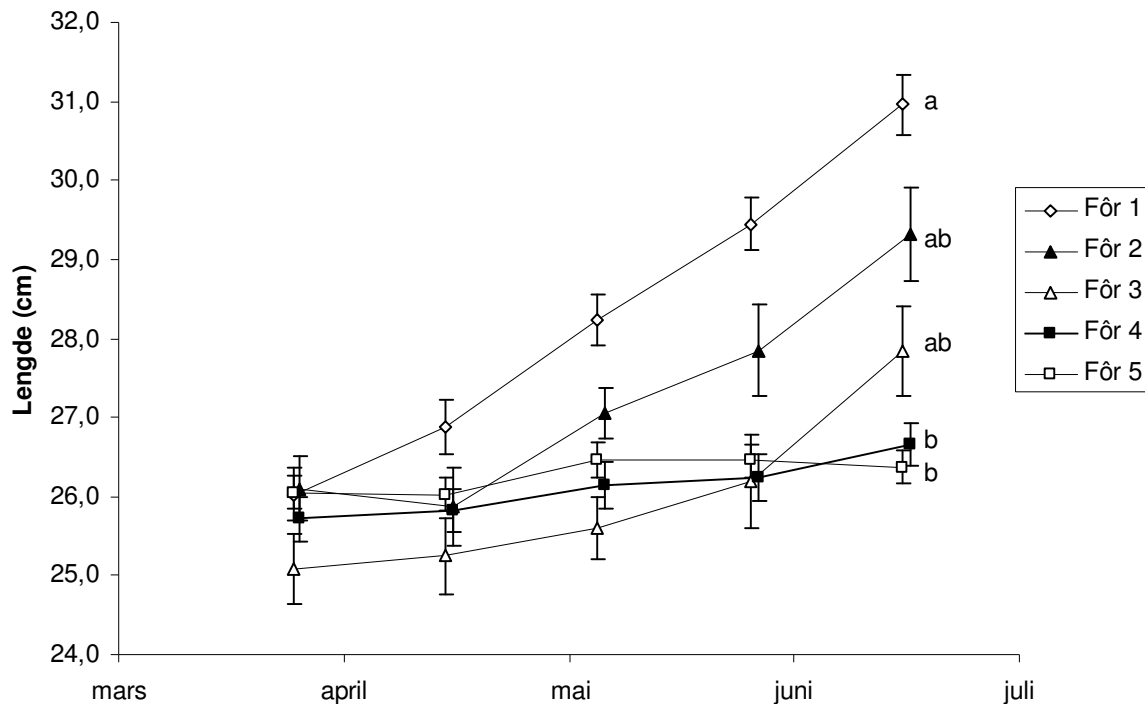
**Tabell 8. TGC for fisk som gikk gjennom forsøket uten å bli samlet i undergrupper av behandlingsgruppe før. TGC er vist for den første perioden individer i undergruppen viste vekst (skarvert område) og ut forsøket. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom datoer for den aktuelle undergruppen. Presenterte verdier er snitt ± standardavvik. CV er presentert i parentes.**

Undergruppe	N	25.03-15.04	15.04-06.05	06.05-27.05	27.05-17.06
1	33	3,29 <sup>a</sup> ± 1,19 (36 %)	4,07 <sup>a</sup> ± 1,96 (48 %)	3,42 <sup>a</sup> ± 1,45 (42 %)	6,19 <sup>b</sup> ± 0,99 (16 %)
2	10		4,05 <sup>ab</sup> ± 3,96 (98 %)	3,55 <sup>a</sup> ± 1,97 (50 %)	6,55 <sup>b</sup> ± 0,79 (12 %)
3	6			3,55 <sup>a</sup> ± 1,07 (30 %)	6,79 <sup>b</sup> ± 1,21 (18 %)
4	33				3,65 ± 2,13 (58 %)

Hver av undergruppene som viste en vektøkning gjennom forsøksperioden hadde en signifikant høyere TGC ved siste periode av forsøket sammenliknet med foregående periode og, med unntak av undergruppe 2, sammenliknet med perioden den respektive undergruppen startet å øke i vekt (skarvert område i tabell 8). Det var en trend at TGCens CV, for hver av undergruppene, sank gjennom forsøksperioden.

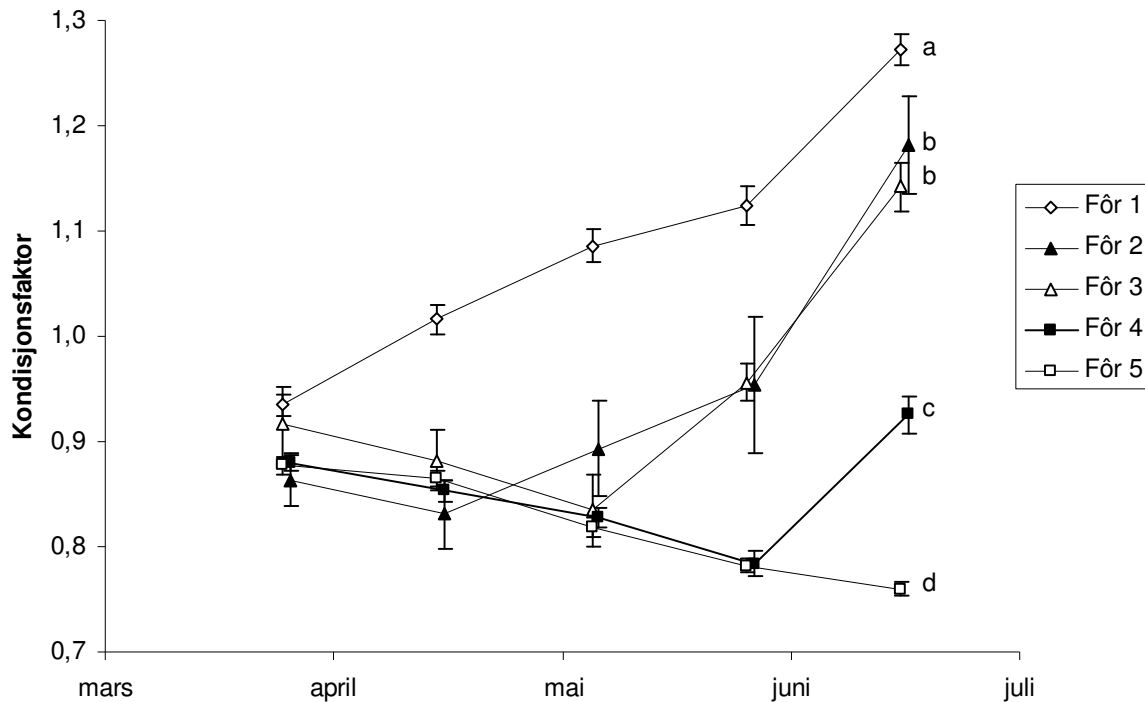
Etter selve forsøksperioden var avsluttet, startet også fisk i undergruppe 5 å øke i vekt. I løpet av en treukers periode etter forsøksslutt hadde 65 % av de undersøkte fiskene en vektøkning, og i løpet av den neste treukers perioden viste alle de resterende fiskene en vektøkning (N = 17). Ved siste observasjonspunkt, den 17.08, var vekta til de undersøkte fiskene i hver undergruppe som følger: 1 - 610 ± 142 gram (N = 15), 2 - 540 ± 81 gram (N = 3), 3 - 518 ± 46 gram (N = 3), 4 - 495 ± 92 gram (N = 21) og 5 - 409 ± 85 gram (N = 17).

Ved observasjoner foretatt den 17.08 viste 36 % av de undersøkte fiskene morfologiske tegn på kjønnsmodning (N = 59). Fisk som viste tegn til modning hadde en signifikant høyere sannsynlighet for å tilhøre undersøkt fisk fra undergruppene 1 og 2 med tidlig vektøkning (11 av 18 stk tegn til modning), enn undergruppene 3 og 4 med vektøkning midtveis (8 av 24 stk) og undergruppe 5 uten vektøkning (2 av 17 stk) i løpet av forsøksperioden (P<0,05).



**Figur 8. Kroppslengde (snitt ± standardfeil) for individer av anadrom røye for 5 forskjellige undergrupper av behandlingsgruppe fôr. Dette var individer som fulgte hele forsøket, uten å bli tatt prøve av (undergruppe 1: N = 33, undergruppe 2: N = 10, undergruppe 3: N = 6, undergruppe 4: N = 33, undergruppe 5: N = 38 ). Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom undergrupper med bakgrunn i hele forsøksperioden.**

Behandlingsgruppe fôrs lengde ble påvirket av undergruppe ( $F_{4,115} = 9,8$ ,  $P < 0,001$ ), og tid ( $F_{4,460} = 351$ ,  $P < 0,001$ ). Det var signifikante forskjeller i lengden mellom de enkelte undergrupper med bakgrunn i hele forsøksperioden. Det var ingen signifikante forskjeller mellom undergruppene ved forsøksstart. Gjennomsnittslengden til undergruppe 1 økte fra  $26,0 \pm 2,0$  cm til  $31,0 \pm 2,2$  cm, mens den for undergruppe 5 økte fra  $26,0 \pm 1,3$  cm til  $26,4 \pm 1,3$  cm i løpet av forsøksperioden (figur 8). For hver enkelt undergruppe ble det påvist signifikante forskjeller underveis i forsøksperioden (vedlegg 7.6).



**Figur 9. Kondisjonsfaktor (snitt ± standardfeil) for individer av anadrom røye for 5 forskjellige undergrupper av behandlingsgruppe fôr. Dette var individer som fulgte hele forsøket, uten å bli tatt prøve av (undergruppe 1: N = 33, undergruppe 2: N = 10, undergruppe 3: N = 6, undergruppe 4: N = 33, undergruppe 5: N = 38). Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom undergrupper med bakgrunn i hele forsøksperioden.**

Behandlingsgruppe fôrs kondisjonsfaktor ble påvirket av undergruppe ( $F_{4,115} = 124$ ,  $P < 0,001$ ), og tid ( $F_{4,460} = 143$ ,  $P < 0,001$ ). Det var signifikante forskjeller i kondisjonsfaktor mellom de enkelte undergrupper med bakgrunn i hele forsøksperioden. Ved forsøksstart var gjennomsnittskondisjonsfaktoren til fisk i undergruppe 1 størst ( $0,93 \pm 0,06$ ), undergruppe 3 nest størst ( $0,92 \pm 0,09$ ), deretter undergruppe 4 ( $0,88 \pm 0,04$ ) og 5 ( $0,88 \pm 0,05$ ), mens undergruppe 2 var minst ( $0,86 \pm 0,07$ ). Kondisjonsfaktor i undergruppe 1 var signifikant høyere enn den i undergruppe 2, 4 og 5 ved dette tidspunktet.

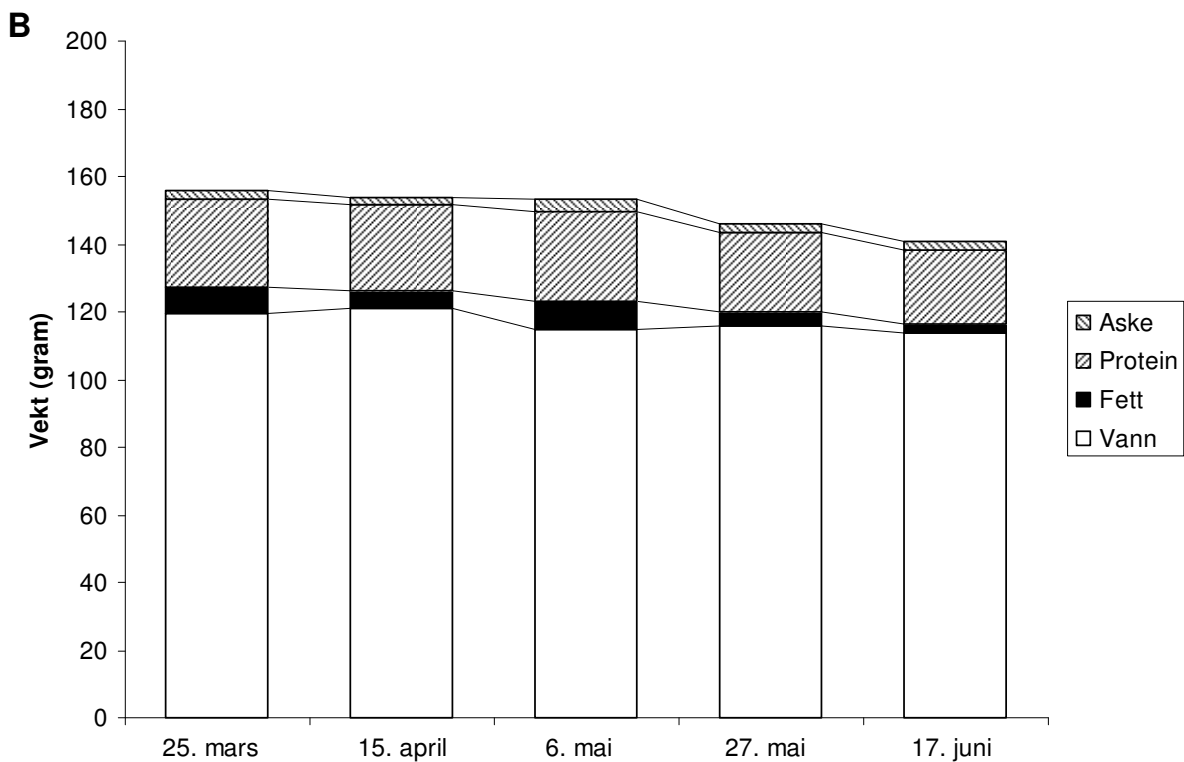
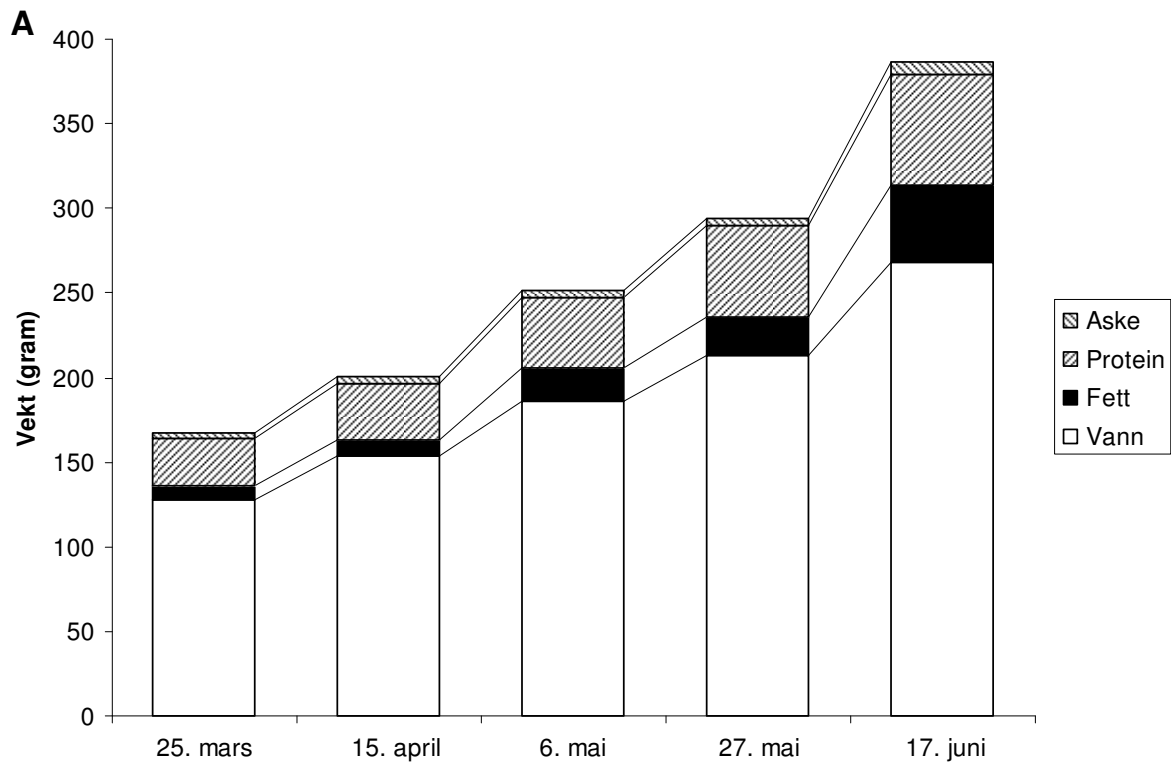
Gjennomsnittskondisjonsfaktoren til undergruppe 1 økte til  $1,27 \pm 0,09$ , mens den for undergruppe 5 ble redusert til  $0,76 \pm 0,04$  i løpet av forsøksperioden (figur 9). For hver enkelt undergruppe ble det påvist signifikante forskjeller underveis i forsøksperioden (vedlegg 7.6).

I videre presentasjoner av data for undergruppene, vil det kun presenteres data fra undergruppe 1 og 5 på grunn av at det var et lavt antall uttatte individer fra undergruppe 2, 3 og 4 (se vedlegg 7.6).

**Tabell 9. Prosentvis kroppssammensetning for uttatt fisk av behandlingsgruppe før, undergruppe 1 og 5. N gruppe 1 = 10, 3, 5, 2 og 4. N gruppe 5 = 10, 6, 4, 7 og 2. Presenterte verdier er snitt ± standardavvik. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom datoer for den aktuelle parameteren. Stjerne indikerer signifikant forskjell mellom de to undergruppene ved den aktuelle datoen.**

%	Gr.	25. mars	15. april	6. mai	27. mai	17. juni
Fett	1		4,88 <sup>ab</sup> ± 1,99	8,00 <sup>bc</sup> ± 3,42	7,56 <sup>b</sup> ± 1,09 <sub>*</sub>	11,96 <sup>c</sup> ± 1,62 <sub>**</sub>
	5	4,71 <sup>a</sup> ± 1,59	3,18 <sup>bc</sup> ± 0,73	5,31 <sup>ac</sup> ± 3,56	2,92 <sup>ab</sup> ± 2,15	1,94 <sup>bc</sup> ± 0,03
Vann	1		76,29 <sup>ab</sup> ± 1,69 <sub>*</sub>	74,05 <sup>b</sup> ± 2,22	72,52 <sup>b</sup> ± 0,42 <sub>**</sub>	69,14 <sup>c</sup> ± 0,57 <sub>***</sub>
	5	76,74 <sup>a</sup> ± 1,54	78,70 <sup>b</sup> ± 1,08	75,01 <sup>a</sup> ± 1,96	79,25 <sup>b</sup> ± 2,31	80,59 <sup>b</sup> ± 1,11
Aske	1		2,27 <sup>a</sup> ± 1,12	1,53 <sup>a</sup> ± 0,53	1,43 <sup>a</sup> ± 0,72	1,91 <sup>a</sup> ± 0,78
	5	1,74 <sup>a</sup> ± 0,13	1,66 <sup>a</sup> ± 0,46	2,15 <sup>a</sup> ± 1,42	1,94 <sup>a</sup> ± 0,51	1,94 <sup>a</sup> ± 0,03
Protein (rest)	1		16,56 ± 1,00	16,42 ± 1,47	18,48 ± 0,05	16,99 ± 1,19
	5	16,82 ± 1,21	16,47 ± 0,67	17,53 ± 1,77	15,89 ± 1,43	15,53 ± 1,16

Ved de to siste samlingene var det signifikant forskjell i kroppssammensetningen mellom uttatt fisk av undergruppe 1 og 5 med hensyn til prosentvis fett- og vanninnhold. Undergruppe 1 hadde en signifikant økning av andel fett og signifikant reduksjon av andel vann fra start til slutt av forsøksperioden. Samtidig hadde undergruppe 5 en signifikant reduksjon i andel fett og en signifikant økning av andel vann (tabell 9). Ved å kombinere disse dataene med gjennomsnittsvekten til fisk som gikk gjennom forsøket uten å bli tatt ut, ser man tydelig en akkumulering av mengde fett og proteiner hos undergruppe 1 (figur 10 A). Det er beregnet en individuell akkumulering på 38 gram fett (1444 kJ), 38 g protein (897 kJ) og 226 mg leverglykogen (tabell 10; 3,8 kJ) for denne gruppa. Det var også en tydelig reduksjon av de samme komponentene hos undergruppe 5 (figur 10 B). Det individuelle forbruket hos denne gruppa var på 4,6 g fett (175 kJ), 4,3 g protein (101 kJ) og 26 mg leverglykogen (tabell 10; 0,43 kJ). Energibidraget fra fett var dermed ca 1,7 ganger høyere enn fra proteiner.



**Figur 10. Vekt og kroppssammenlikning for gjennomsnittsfisk av behandlingsgruppe fôr. A: undergruppe 1 som hadde vektøkning gjennom hele forsøket (N = 33). B: undergruppe 5 som hadde vektreduksjon gjennom hele forsøket (N = 38). Vekt er undergruppens gjennomsnittsvikt i figur 7, kroppssammensetning er beregnet på bakgrunn av tabell 9.**

**Tabell 10. Leverdata for behandlingsgruppe fôr, undergrupper 1 og 5. N gruppe 1 = 10, 3, 5, 2 og 4. N gruppe 5 = 10, 6, 4, 7, og 2. Presenterte verdier er snitt ± standardavvik. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom datoer for den aktuelle parameteren. Stjerne indikerer signifikant forskjell mellom de to undergruppene ved den aktuelle datoen.**

	Gr.	25. mars	15. april	6. mai	27. mai	17. juni
Hepatosomatisk indeks (HSI)	1		1,87 <sup>b</sup> ± 0,42	2,06 <sup>b</sup> ± 0,53	1,82 <sup>ab</sup> ± 0,08	2,04 <sup>b</sup> ± 0,23
	5	1,25 <sup>a</sup> ± 0,16	1,16 <sup>a</sup> <sup>**</sup> ± 0,16	1,31 <sup>a</sup> <sup>**</sup> ± 0,28	1,08 <sup>a</sup> <sup>**</sup> ± 0,14	1,17 <sup>a</sup> <sup>**</sup> ± 0,22
Leverglykogen (mg)	1		155,8 <sup>ab</sup> ± 71,3	111,4 <sup>ab</sup> ± 52,7	72,8 <sup>ab</sup> ± 50,2	264,8 <sup>b</sup> ± 49,8
	5	38,7 <sup>a</sup> ± 18,3	25,9 <sup>ab</sup> <sup>*</sup> ± 7,9	31,2 <sup>ab</sup> ± 17,9	13,0 <sup>b</sup> <sup>*</sup> ± 15,7	13,0 <sup>b</sup> <sup>***</sup> ± 3,4

Leverdataene viste en signifikant økning av HSI og leverglykogen for uttatt fisk av undergruppe 1 gjennom forsøksperioden. Samtidig var det en signifikant reduksjon i leverglykogen for uttatt fisk av undergruppe 5. Det var signifikante forskjeller mellom de to undergruppene tidlig i forsøksperioden (tabell 10). Når det gjelder leverenzymkapasitet var det en fire gangers økning av G6PDH gjennom forsøksperioden hos undergruppe 1, og en signifikant høyere enzymkapasitet for G6PDH i denne gruppa enn i undergruppe 5 ved forsøkslutt. For undergruppe 1 var det også en signifikant økning av HOAD og LDH i samme periode. For undergruppe 5 var det kun ett enzym (Ala-AT) som hadde en signifikant endring gjennom forsøket, da kapasiteten til dette enzymet nesten ble doblet i løpet av forsøksperioden (tabell 11).

**Tabell 11. Leverenzymkapasitet for behandlingsgruppe fôr, undergrupper 1 og 5. N gruppe 1 = 10, 5 og 4. N gruppe 5 = 10, 4 og 2 med unntak av HOAD der N 17. juni = 1. Presenterte verdier er snitt ± standardavvik. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom datoer for den aktuelle parameteren. Stjerne indikerer signifikant forskjell mellom de to undergruppene ved den aktuelle datoen.**

	Gr	25. mars	6. mai	17. juni
Ala-AT (U x L/K)	1		29,38 <sup>a</sup> ± 2,13	19,92 <sup>a</sup> ± 4,53
	5	20,26 <sup>a</sup> ± 4,70	22,08 <sup>a</sup> ± 2,53	38,52 <sup>b</sup> ± 9,17
Asp-AT (U x L/K)	1		18,79 <sup>a</sup> ± 7,50	16,75 <sup>a</sup> ± 2,45
	5	12,18 <sup>a</sup> ± 3,79	12,09 <sup>a</sup> ± 2,64	12,90 <sup>a</sup> ± 7,01
G6PDH (U x L/K)	1		18,94 <sup>b</sup> ± 10,55 ***	15,16 <sup>b</sup> ± 1,91 ***
	5	4,05 <sup>a</sup> ± 0,75	4,60 <sup>a</sup> ± 1,47	3,91 <sup>a</sup> ± 1,30
HOAD (U x L/K)	1		0,87 <sup>b</sup> ± 0,19 **	0,77 <sup>b</sup> ± 0,17
	5	0,49 <sup>a</sup> ± 0,07	0,51 <sup>a</sup> ± 0,13	0,43 <sup>(a)</sup>
LDH (U x L/K)	1		77,01 <sup>b</sup> ± 22,64	69,37 <sup>b</sup> ± 9,22
	5	45,48 <sup>a</sup> ± 7,11	63,49 <sup>a</sup> ± 25,22	53,61 <sup>a</sup> ± 7,45
PEPCK (U x L/K)	1		0,32 <sup>b</sup> ± 0,07	0,26 <sup>ab</sup> ± 0,05
	5	0,19 <sup>a</sup> ± 0,07	0,22 <sup>a</sup> ± 0,06	0,22 <sup>a</sup> ± 0,03
PK (U x L/K)	1		1,43 <sup>b</sup> ± 0,32 **	1,09 <sup>ab</sup> ± 0,22
	5	0,74 <sup>a</sup> ± 0,17	0,85 <sup>a</sup> ± 0,12	1,04 <sup>a</sup> ± 0,39

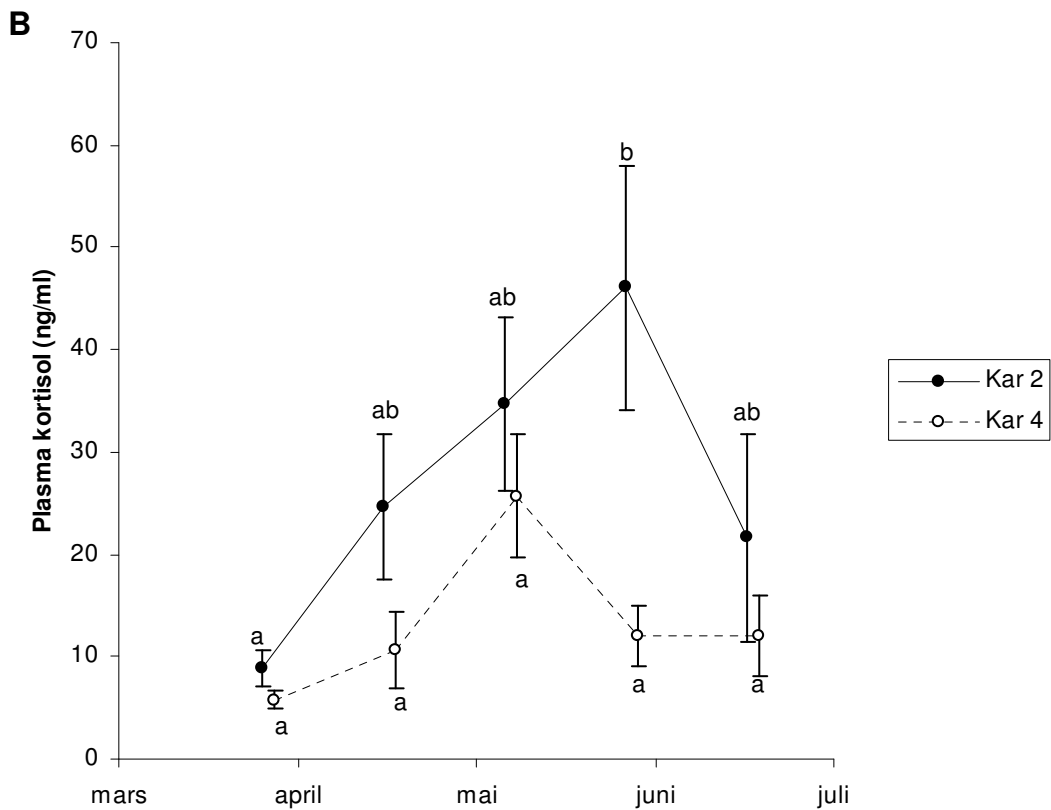
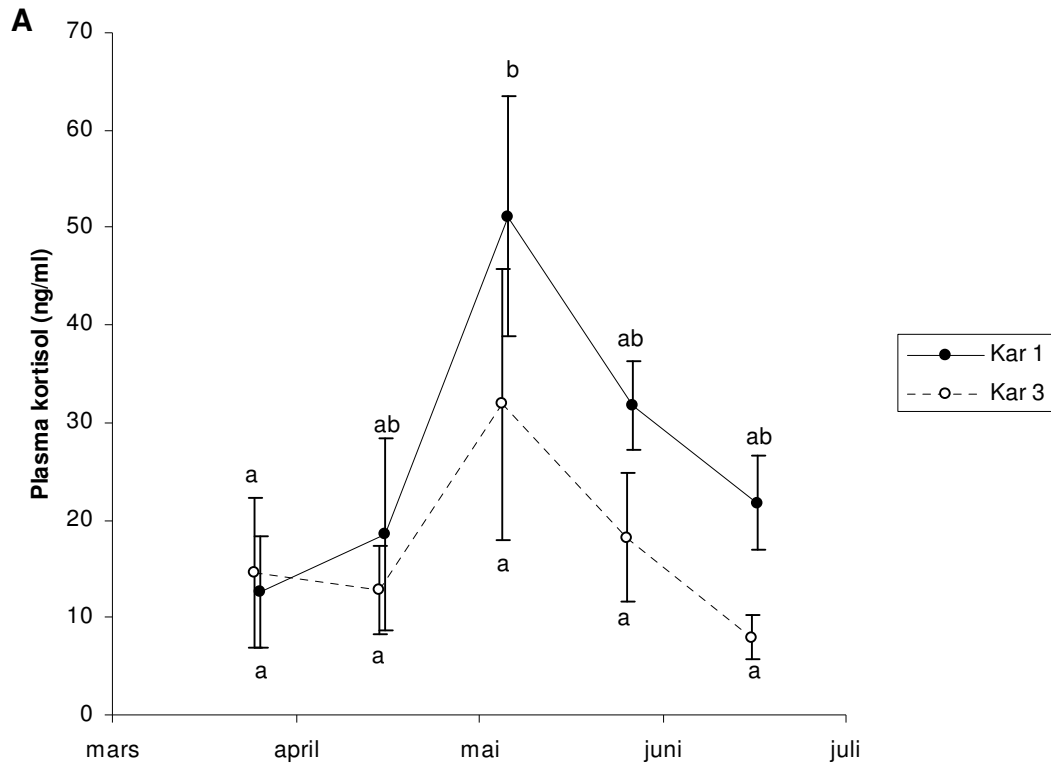


### 3.3 Sammenlikning av behandlingsgruppe sult og behandlingsgruppe fôr

Gjennomsnittsvekten for fiskene tilhørende behandlingsgruppe fôr (N = 120) økte fra  $156 \pm 29$  gram til  $236 \pm 117$  gram (CV = 50 %) i løpet av forsøksperioden. Gjennomsnittslengden økte fra  $25,9 \pm 1,6$  cm til  $28,0 \pm 2,6$  cm (CV = 9 %), og gjennomsnittskondisjonsfaktoren fra  $0,89 \pm 0,06$  til  $1,00 \pm 0,23$  (CV = 23 %).

Gjennomsnittsvekten for fisk tilhørende behandlingsgruppe sult (N = 126) ble redusert fra  $152 \pm 26$  gram til  $131 \pm 24$  gram (CV = 18 %) i løpet av forsøksperioden. Gjennomsnittslengden økte fra  $25,7 \pm 1,5$  cm til  $25,9 \pm 1,5$  cm (CV = 6 %) og gjennomsnittskondisjonsfaktoren ble redusert fra  $0,88 \pm 0,04$  til  $0,75 \pm 0,04$  (CV = 5 %). CV hos behandlingsgruppe sult var altså betydelig lavere for parameterne vekt, lengde og kondisjon ved slutten av forsøksperioden enn hos behandlingsgruppe fôr, og gjenspeiler en stor heterogenitet hos fôrgruppa, sammenliknet med en mer homogen sultegruppe.

Ved siste observasjonspunkt, 17.08, var gjennomsnittsvekt og -kondisjon for undersøkte fisker tilhørende behandlingsgruppe fôr (N = 59) henholdsvis  $503 \pm 125$  gram og  $1,36 \pm 0,07$ . Tjueen fisker (36 %) viste morfologiske tegn på kjønnsmodning. Ved samme tidspunkt var gjennomsnittsvekt og -kondisjon for undersøkte fisker av behandlingsgruppe sult (N = 87) henholdsvis  $321 \pm 59$  gram og  $1,25 \pm 0,06$ . Ti fisker (11,5 %) viste tegn til kjønnsmodning, en andel som var signifikant lavere (P<0,001) sammenliknet med behandlingsgruppe fôr.



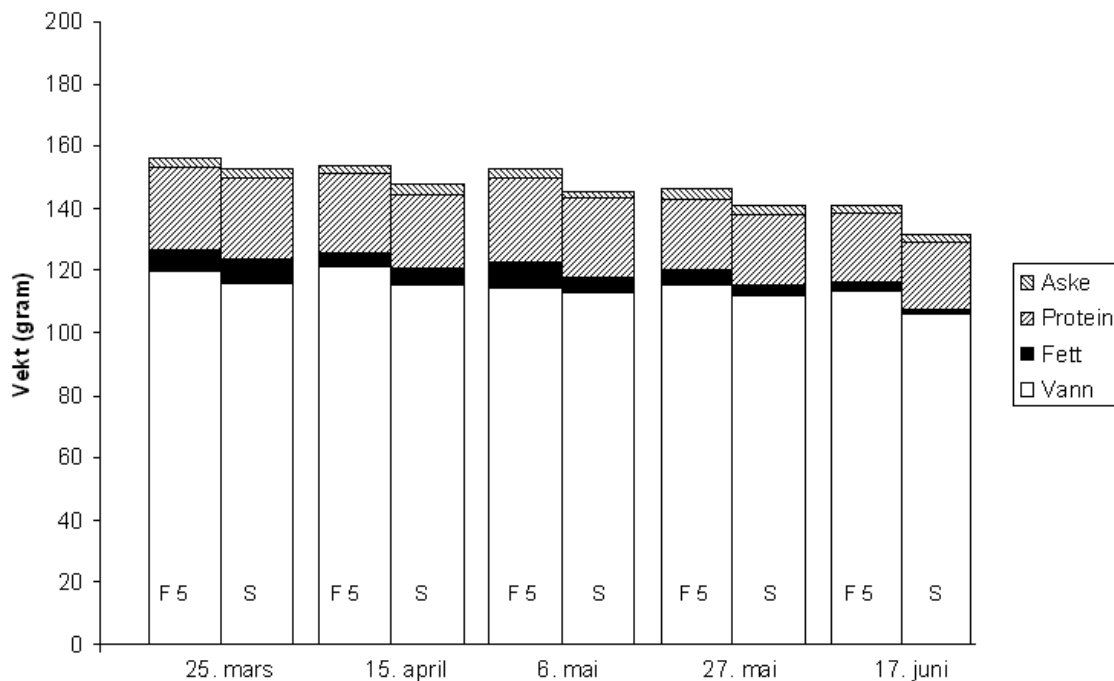
Figur 11. Plasmakortisol (snitt ± standardfeil). A: behandlingsgruppe fôr. B: behandlingsgruppe sult. N = 5 for hvert kar ved hvert tidspunkt. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom datoer for det aktuelle karet.

Med tanke på plasmakortisol, som ble analysert for alle uttatte individer ( $N = 100$ ), ble det påvist en signifikant effekt av tid ( $F_{4,89} = 7,6$ ,  $P < 0,001$ ), men ingen effekt av behandling (fôr kontra sult) eller undergruppe innen behandlingsgruppe fôr. Det var en signifikant økning i plasmakortisolkonsentrasjon hos uttatt fisk i kar 1, behandlingsgruppe fôr, og kar 2, behandlingsgruppe sult, fra start av forsøket til ca. midtveis i forsøksperioden (figur 11 A og B). En tilsvarende trend ble sett i kar 3 og 4, men endringene i plasmakortisolkonsentrasjonen i disse fiskene var ikke signifikant. Det ble også påvist en signifikant effekt av kar ( $F_{1,89} = 13,3$ ,  $P < 0,001$ ). Dette var den eneste målte parameteren i forsøket som viste en slik effekt. Kar 1, som var nærmest døra i forsøksrommet, hadde høyere gjennomsnittsverdier av plasmakortisol for uttatt fisk enn kar 3, som var lengre unna døra. Det var også en effekt av kar for replikatene til sultgruppen. Kar 2, som var nærmere døra, hadde gjennomsnittsverdier som var høyere enn kar 4, lengst unna døra, gjennom hele forsøksperioden (figur 11 B).

Plasmaglukose ble analysert for alle uttatte individer 25.03, 06.05 og 17.06 ( $N = 60$ ). Det ble ikke påvist noen signifikante forskjeller mellom undergruppene eller behandlingsgruppene, men det ble påvist en signifikant effekt av tid ( $F_{2,48} = 6,4$ ,  $P < 0,01$ ). Gjennomsnittsverdier for individer fra begge behandlingsgruppene økte fra rundt 3,8 mM ved forsøksstart til 4,4 mM midtveis i forsøket, for deretter å synke til 4,2 mM ved forsøksslutt. Det ble funnet en signifikant korrelasjon mellom individers plasmakortisol og plasmaglukoseverdier ( $F_{1,58} = 21,5$ ,  $P < 0,001$ ,  $N = 60$ ), men med en lav  $R^2$  verdi (0,27).

### 3.4 Sammenlikning av behandlingsgruppe sult og undergruppe 5 i behandlingsgruppe fôr

I løpet av forsøksperioden, og mellom hver måling, tapte alle individer i disse gruppene vekt. Det var derimot en trend til et lavere vekttap (høyere TGC) blant fiskene i undergruppe 5. TGC var signifikant høyere hos denne gruppen enn hos behandlingsgruppe sult ved den første og den siste perioden av forsøket (tabell 12). For begge gruppene var vekttapet høyere (TGC lavere) den siste halvdel av forsøksperioden sammenliknet med den første halvdel (tabell 12). For fisk fra undergruppe 5 ble det observert noe magetarminnhold blant 40 % av individene tatt ut gjennom forsøksperioden.



**Figur 12. Vekt- og kroppssammenlikning for gjennomsnittsfisk av behandlingsgruppe sult (S; N = 136) og undergruppe 5 (F 5) av behandlingsgruppe fôr (N = 38). Sammenslåing av figur 4 og 10 B.**

Det ble ikke påvist noen signifikante forskjeller mellom kroppssammensetningen til uttatt fisk av behandlingsgruppe sult og undergruppe 5 av behandlingsgruppe fôr ved noen av samlingstidspunktene (tall fra tabell 1 og 9). Dette understrekes av figur 12. Begge gruppene mobiliserte fett og proteiner i løpet av forsøksperioden. For behandlingsgruppe sult var det et 1,8 ganger høyere energibidrag fra fett enn fra proteiner gjennom forsøksperioden, mens forholdet i undergruppe 5 var 1,7.

**Tabell 12. Thermal-unit growth coefficient (TGC) for fisk som gjennomgikk hele forsøket i behandlingsgruppe sult (S) og undergruppe 5 (F 5) av behandlingsgruppe fôr. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom datoer for den aktuelle gruppen. Stjerne indikerer signifikant forskjell mellom de to gruppene ved den aktuelle datoen. Presenterte verdier er snitt  $\pm$  standardavvik.**

Gruppe	N	25.03-15.04	15.04-06.05	06.05-27.05	27.05-17.06
F 5	38	-0,27 <sup>a</sup> $\pm$ 0,33	-0,12 <sup>a</sup> $\pm$ 0,53	-0,73 <sup>b</sup> $\pm$ 0,42	-0,65 <sup>b</sup> $\pm$ 0,45
S	126	-0,54 <sup>a</sup> $\pm$ 0,31	-0,19 <sup>b</sup> $\pm$ 0,35	-0,65 <sup>a</sup> $\pm$ 0,39	-1,05 <sup>c</sup> $\pm$ 0,54

Når det gjelder sammenlikning av leverdata for disse to gruppene (tabell 13), var det ingen signifikante forskjeller mellom dem, med unntak av Ala-AT 17. juni og HOAD 6. mai. Ved samplingen den 17. juni var det kun to individer tilhørende undergruppe 5. Dette gjør at signifikansforskjellen må tolkes med varsomhet.

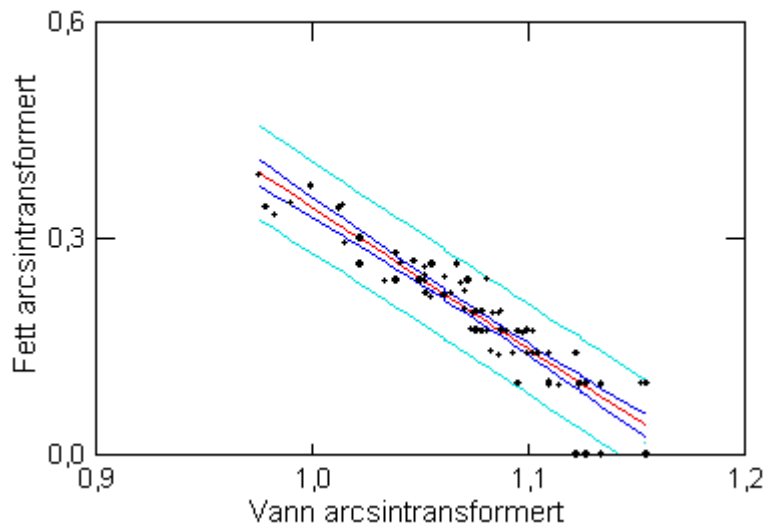
Etter at selve forsøksperioden var avsluttet ble også fisk i behandlingsgruppe sult tilbydd fôr. I løpet av perioden 17.06-17.08 økte alle undersøkte individer i vekt, uansett gruppetilhørighet. Den 17.08 var vekten og kondisjonsfaktoren henholdsvis  $409 \pm 85$  gram og  $1,33 \pm 0,06$  (N = 17) for fisk i undergruppe 5 og  $321 \pm 59$  gram og  $1,25 \pm 0,06$  for fisk fra behandlingsgruppe sult. Ved observasjoner foretatt den 17.08 viste 11,5 % av undersøkte fisker (N = 87) innen behandlingsgruppe sult og 11,8 % av undersøkte fisker (N = 17) innen undergruppe 5 morfologiske tegn på kjønnsmodning. Disse to gruppene, selv om de tilhørte to forskjellige behandlingsgrupper, viste dermed klare likheter gjennom forsøksperioden, med noen få unntak, eksempelvis TGC.

**Tabell 13. Sammenlikning av leverdata for uttatt fisk av behandlingsgruppe sult (N = 10 ved hvert tidspunkt) og undergruppe 5 av behandlingsgruppe fôr (N = 10, 4 og 2 med unntak av HOAD der N 17. juni = 1). Presenterte verdier er snitt ± standardavvik. Stjerne indikerer signifikant forskjell mellom de to gruppene ved den aktuelle datoen.**

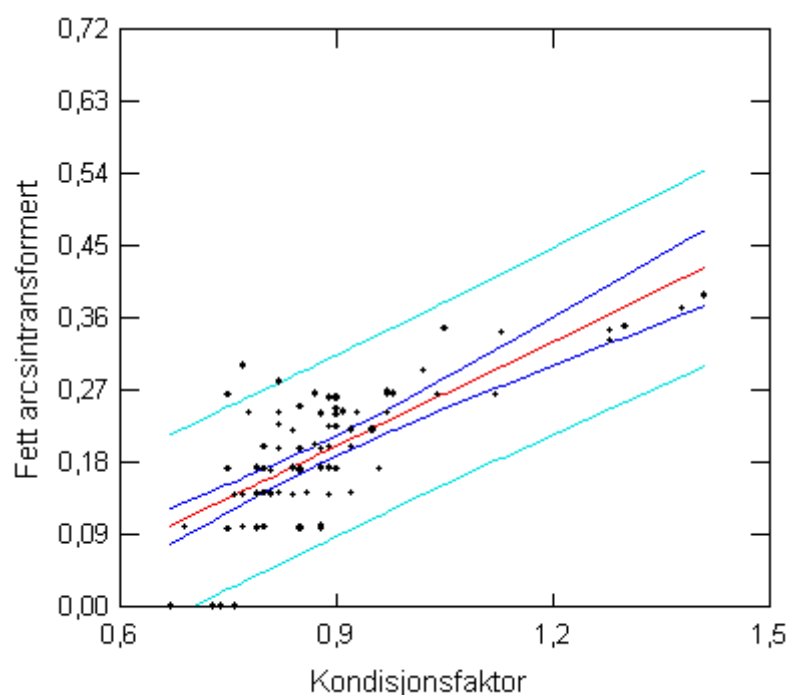
	Gr	25. mars	6. mai	17. juni
HSI	S	1,25 ± 0,21	1,13 ± 0,07	1,03 ± 0,14
	5	1,25 ± 0,16	1,31 ± 0,28	1,17 ± 0,22
Leverglykogen (mg)	S	47,92 ± 28,57	31,50 ± 9,29	4,59 ± 2,61
	5	38,73 ± 18,3	31,18 ± 17,9	13,00 ± 3,4
Lever Ala-AT (U x L/K)	S	21,58 ± 6,28	21,76 ± 5,10	18,61 ± 4,67
	5	20,26 ± 4,70	22,08 ± 2,53	38,52 <sup>**</sup> ± 9,17
Lever Asp-AT (U x L/K)	S	10,33 ± 1,92	10,09 ± 2,28	8,27 ± 2,21
	5	12,18 ± 3,79	12,09 ± 2,64	12,90 ± 7,01
Lever G6PDH (U x L/K)	S	5,17 ± 1,29	3,92 ± 1,06	2,48 ± 0,82
	5	4,05 ± 0,75	4,60 ± 1,47	3,91 ± 1,30
Lever HOAD (U x L/K)	S	0,48 ± 0,08	0,45 ± 0,05	0,33 ± 0,08
	5	0,49 ± 0,07	0,51 <sup>**</sup> ± 0,13	0,43
Lever LDH (U x L/K)	S	51,45 ± 13,05	49,60 ± 4,59	35,44 ± 6,21
	5	45,48 ± 7,11	63,49 ± 25,22	53,61 ± 7,45
Lever PEPCK (U x L/K)	S	0,19 ± 0,05	0,19 ± 0,06	0,16 ± 0,05
	5	0,19 ± 0,07	0,22 ± 0,06	0,22 ± 0,03
Lever PK (U x L/K)	S	0,78 ± 0,21	0,91 ± 0,16	0,61 ± 0,25
	5	0,74 ± 0,17	0,85 ± 0,12	1,04 ± 0,39

### 3.5 Sammenhenger mellom prosent fettinnhold, vanninnhold og kondisjon

Analyse av fettinnhold, slik det er gjort i denne oppgaven, tar lang tid og krever at man avliver fisken. Det kan derfor være fordelmessig å kunne beregne fettinnholdet på andre måter. Det ble derfor sett etter eventuelle korrelasjoner mellom andre kroppsparametere og fettinnhold. Av 100 individer, der man hadde data for blant annet fettinnhold, vanninnhold og kondisjonsfaktor, ble 80 av dem tilfeldig valgt ut for å danne grunnlaget for korrelasjonsmodeller. De 20 resterende individene ble brukt for å kryssvalidere modellene.



**Figur 13. Sammenheng mellom vanninnhold og fettinnhold for 80 tilfeldig utvalgte individer fra begge behandlingsgrupper. Innholdet er arcsintransformert. En lineær regresjonslinje er presentert i rødt. 95 % konfidens- og prediksjonsintervall er presentert som henholdsvis mørkeblåe og lyseblåe streker.**



**Figur 14.** Sammenheng mellom kondisjonsfaktor og fettinnhold for 80 tilfeldig utvalgte individer fra begge behandlingsgrupper. Fettinnholdet er arcsintransformert. En lineær regresjonslinje er presentert i rødt. 95 % konfidens- og prediksjonsintervall er presentert som henholdsvis mørkeblåe og lyseblåe streker.

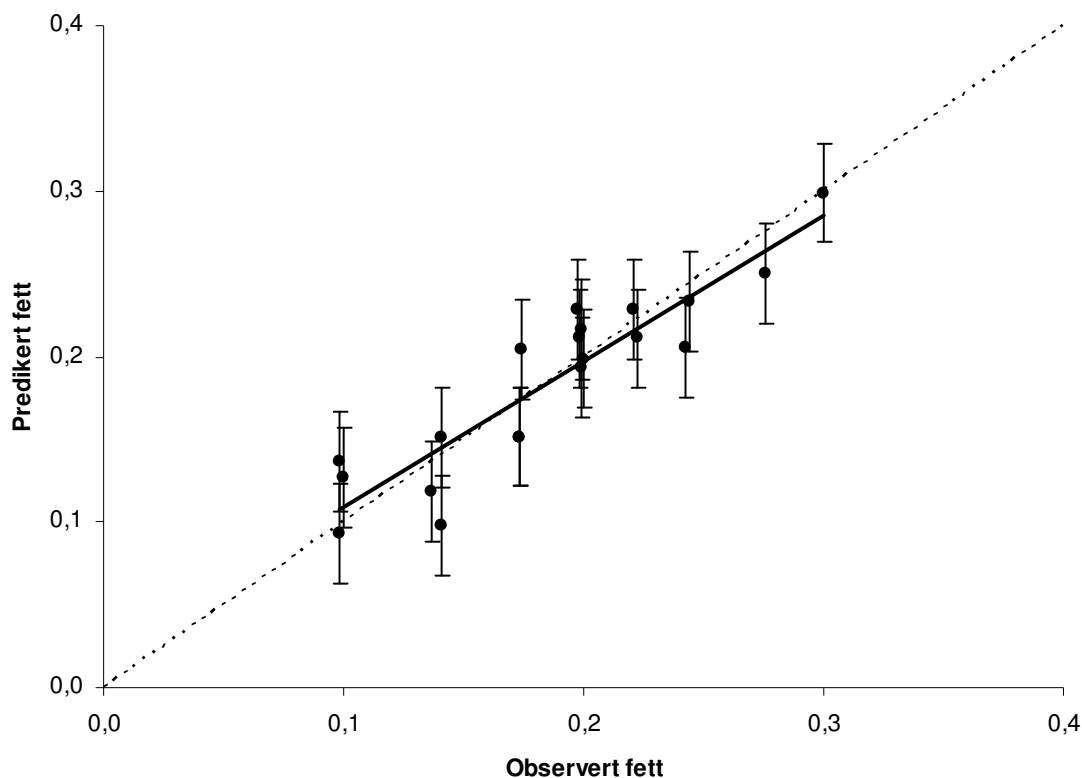
**Tabell 14.** Regresjonsmodeller for å predikere kroppsfett ut ifra vanninnhold og kondisjonsfaktor.

Modellenes form er: fett = a (vann eller kondisjonsfaktor) + b. Standardavvik for a og b, samt residual sum of squares ( $R^2$ ), frihetsgrader (F), signifikans (P) og antall (N) for modellen er også presentert.

Modell	a	b	$R^2$	F	P	N
Vann og fett (figur 13)	$-1,967 \pm 0,79$	$2,310 \pm 0,84$	0,87	$1,78 = 503$	$<0,0001$	80
Kondisjonsfaktor og fett (figur 14)	$0,435 \pm 0,39$	$-0,191 \pm 0,36$	0,56	$1,78 = 98$	$<0,0001$	80

Begge regresjonsmodellene som ble laget for å kunne si noe om fettinnholdet i røya (figur 13 og 14) viste en signifikant korrelasjon mellom fettinnhold og den andre målte parameteren (vanninnhold eller kondisjonsfaktor).  $R^2$  verdien var derimot lavere for kondisjonsmodellen enn vannmodellen (tabell 14). Denne verdien forteller at vanninnhold forklarer 87 % av variabiliteten i fettinnhold, mens kondisjonsfaktor forklarer 56 % av variabiliteten i fettinnholdet. For å validere disse modellene, ble de 20 resterende individenes observerte fettverdier sammenliknet med de predikerte fettverdiene ut ifra modellene.

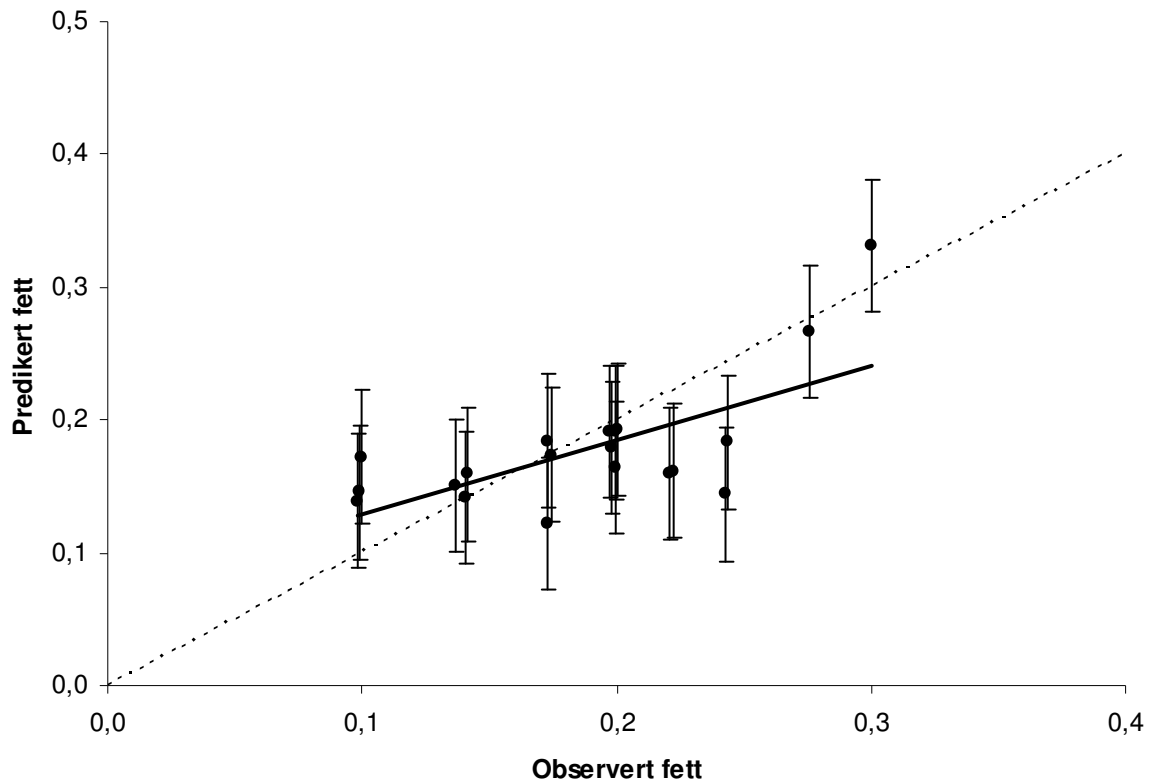




**Figur 15. Kryssvalidering av predikert kroppsfett ut ifra vanninnhold på 20 tilfeldig utvalget individer. Fettinnholdet er arcsintransformert. Hel linje er regresjonslinjen, stiplet linje er en 1:1 forholdslinje mellom observerte og predikerte verdier. Standardfeil på bakgrunn av regresjonsmodellen er presentert. Regresjonslinjens likning er: predikert = 0,879 (observert) + 0,021.  $R^2 = 0,84$ .**

Ved en perfekt korrelasjon mellom observerte og predikerte verdier, skulle den tilhørende regresjonslinjen følge likningen  $y = x$ , vist som en stiplet linje i figur 15. Det vil si en linje med stigningstallet 1,0, og som krysser y-aksen i  $y = 0$  (ved origo).

Regresjonslinjens stigningstall i forholdet mellom observert og predikert fett (figur 15) på grunnlag av vannmodellen (figur 13 og tabell 14), hadde et 95 % konfidensintervall som strakk seg fra 0,70 til 1,08. Linjas stigningstall var ikke signifikant forskjellig fra 1,0. Linjas krysningspunkt med y-aksen var ikke signifikant forskjellig fra 0 ( $P = 0,326$ ). Dette, sett sammen med selve modellens høye  $R^2$  og lave P verdi (tabell 14) gjør at vannmodellen er godt egnet til å estimere/predikere fettinnholdet i tilsvarende fisk av anadrom røye.



**Figur 16. Kryssvalidering av predikert kroppsfett ut ifra kondisjonsfaktor på 20 tilfeldig utvalget individer. Fettinnholdet er arcsintransformert. Hel linje er regresjonslinjen, stiplet linje er en 1:1 forholdslinje mellom observerte og predikerte verdier. Standardfeil på bakgrunn av regresjonsmodellen er presentert. Regresjonslinjens likning er: predikert = 0,564 (observert) + 0,072.  $R^2 = 0,46$ .**

Regresjonslinjens stigningstall i forholdet mellom observert og predikert fett (figur 16) på bakgrunn av kondisjonsmodellen (figur 14 og tabell 14), hadde et 95 % konfidensintervall som strakk seg fra 0,26 til 0,87, og et stigningstall som var signifikant forskjellig fra 1,0. Linjas krysningspunkt med y-aksen var signifikant forskjellig fra 0 ( $P < 0,05$ ). Dette, sett sammen med selve modellens relativt lave  $R^2$  verdi (tabell 14), gjør at kondisjonsmodellen (figur 14 og tabell 14) er mindre egnet til å predikere fettinnhold enn vannmodellen.

## 4.0 Diskusjon

### 4.1 Behandlingsgruppe sult

Flere studier har vist at avkom av anadrom røye i oppdrett har en spisestrategi som innebærer lite eller ingen matinntak om vinteren, og følgelig en negativ energibalanse i denne perioden (Tveiten *et al.*, 1996; Frøiland *et al.*, 2010). Dette gjelder også avkom av røye fra Vårfluesjøen (Aas-Hansen *et al.*, 2003). Basert på den relativt lave kondisjonsfaktor fisken hadde ved starten av forsøket i mars (figur 3) er det grunn til å tro at også fisken brukt i dette forsøket var i en negativ energibalanse forsøksstart. Sultebehandlingen var derfor en forlengelse av en katabolsk status. Forsøket viste at langtidssult av anadrom røye fører til en endogen energimobilisering av kroppsfett, leverglykogen og kroppsprotein. Parallelt med dette ble det målt en tilsynelatende nedregulering av det metabolske apparatet med bakgrunn i en reduksjon i den totale katalytiske kapasitet hos flere leverenzymmer sentrale i metabolske prosesser.

#### 4.1.1 Vekttap

Først mot slutten av forsøket foregikk en betydelig energimobilisering blant fisk i denne behandlingsgruppa. Reduksjonen av gjennomsnittsvekten til fisken i gruppa var raskere, og gruppens gjennomsnittlige TGC (tabell 12) var signifikant lavere, i siste periode av forsøket sammenliknet med foregående perioder (figur 1). Det ble også påvist en signifikant reduksjon i kroppslengden i den siste perioden, mens det i de foregående periodene var en økning i kroppslengde (figur 2). Det var også først i siste periode av forsøket at reduksjonen i prosentandelen kroppsfett (tabell 1) var signifikant.

For fisk som opplever sult, kan konsekvensen av lite matinntak minimeres ved å blant annet redusere aktivitet og metabolisme. For røye er det vist at den går inn i en dvalelignende tilstand med lite lokomotorisk aktivitet i perioder med lite eller ingen matinntak (Boivin & Power, 1990). Ved fravær av mat til et kritisk punkt vil også metabolisme reduseres så mye som mulig. Disse mekanismene gjør at fisken bevarer sine energilagre så lenge som mulig (Love, 1980; Johnston, 1981; Wieser, 1991). Det er imidlertid også vist at ved sult vil fisken først gjennomgå en akklimatiseringsperiode før den etter hvert reduserer metabolismen og tilpasser seg en tilstand uten mat (Ali *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2006).

Våre funn kan dermed virke noe motstridende med dette, i og med at man skulle forvente seg at vekttapet var lavest i slutten av perioden, etter en akklimatiseringsperiode. Vi må derimot ikke glemme at fisken brukt i dette forsøket ble visuelt selektert ut fordi den ikke virket å ha spist i perioden før selve forsøket. 33 av 120 fisk (28 %) i behandlingsgruppe fôr økte i vekt i første periode av forsøket (undergruppe 1, tabell 7). Majoriteten av fisken i behandlingsgruppe fôr (72 %) hadde dermed ingen vektøkning første periode av forsøket. Denne fisken kom fra samme gruppe fisk som individene i behandlingsgruppe sult. Det er derfor mye som tyder på at de fleste individene allerede ved forsøksstart var akklimatiserte og tilpasset en tilstand med lite eller ingen fôrinntak.

Det at vekttapet økte mot slutten av forsøket, kan ha å gjøre med et skifte i mobiliseringsmønsteret av de endogene energireservene. Som vist i Wang *et al.* (2006) vil pattedyr som sulter gjennomgå tre faser, der fase 3 ender i død. Hver fase varer i timer eller noen få dager. Det er foreslått at fisk gjennomgår de samme fasene, men i et lengre tidsperspektiv (Wang *et al.*, 2006) grunnet ektotermers bedre toleranse for sult enn endotermers (McCue, 2010). Fase 2, der vekttapet er lavt grunnet at organismen er akklimatisert til sult og mobiliserer fett, etterfølges av fase 3, der vekttapet øker grunnet et skifte fra bruk av fett til proteiner som energikilde. Proteiner har en lavere energitetthet enn fett (Jobling, 1994), og for å opprettholde energitilførselen må en større andel proteiner enn fett mobiliseres. En av grunnene til at vekttapet i vårt forsøk ble større mot slutten av forsøket kan forklares med et slikt skifte i mobiliseringen, der en større andel av proteiner ble nyttet som endogen energikilde enn i første halvdel av forsøket (tabell 2). Samtidig som mengden mobiliserte proteiner økte, økte også mengden av vekttap som skyldtes vann. Dette kan ha en sammenheng med at proteiner binder opp mer vann enn fett, og er tidligere observert ved mobilisering av endogene energikilder assosiert med vann (Simpkins *et al.*, 2003). Rundt halvparten av vekttapet til fisken gjennom forsøket skyldtes tap av vann (tabell 2), på tross av at den prosentmessige andelen av vann økte gjennom forsøksperioden (tabell 1). Selv om det ble funnet et signifikant, inverst forhold mellom fett- og vanninnhold i vårt forsøk (tabell 14), betyr ikke dette at vann erstattet mobilisert fett, noe som har vært hevdet ved moderat sult (se Navarro & Gutiérrez, 1995). Vann utgjorde en så stor andel av kroppssammensetningen at når endogene energireserver ble mobilisert, økte den prosentmessige andelen av vann, selv med et vekttap av vann.

Det at energiforbruket til fiskene økte i andre halvdel av forsøket sammenliknet med første halvdel, kan ha å gjøre med fiskens anadrome livsstrategi og det spisemønsteret de har. Mange tidligere studier har vist at umoden, anadrom røye i oppdrett har en kraftig økning i fôrintak og tilvekst i løpet av mai (Tveiten *et al.*, 1996; Aas-Hansen *et al.*, 2003; Bottengård & Jørgensen, 2008; Frøiland *et al.*, 2010; Aarseth *et al.*, 2010). Hos vill, anadrom røye er det også påvist en kraftig økning i appetitt i mai, samtidig som det metabolske apparat gjennomgår en endring fra en energisparesituasjon om vinteren til en situasjon hvor den forbereder seg til et høyt matinntak og kraftig vekst under oppholdet i sjøen, samt skaffer energi til de prosesser som fører til at fisken utvikler sjøvannstoleranse (smoltifisering) (Aas-Hansen *et al.*, 2005b). Disse endringene må antas å være sesongregulert og uttrykt i den forsøksfisken som ble brukt i dette forsøket. Endringene kan ha forårsaket et økt energikrav og dermed vært en medvirkende årsak til den endring som ble observert i endogen energimobilisering hos fisken mot slutten av forsøket.

#### **4.1.2 Endogen energimobilisering**

Glykogen er den viktigste energikilden i lever (Blasco *et al.*, 1992; Navarro & Gutiérrez, 1995). Våre resultater viste at leverglykogenlagrene opprettholdtes lenge på et stabilt nivå, helt til 6 uker ut i forsøket (tabell 3). Dette er motstridende i forhold til den generelle litteraturen (Navarro & Gutiérrez, 1995) og forsøk som har vist at leverglykogen er det første substratet som mobiliseres ved sult (Morata *et al.*, 1982; Sheridan & Mommsen, 1991; Blasco *et al.*, 1992). I enkelte forsøk derimot (Nagai & Ikeda, 1971; Larsson & Lewander, 1973), deriblant forsøk gjort på laksefisk (French *et al.*, 1983; Vijayan *et al.*, 1993; Kullgren *et al.*, 2010) har man ikke funnet en nedgang i glykogenmengden før etter eventuelt lengre tids sult, slik som i vårt forsøk. Et tidligere forsøk gjort på røye, viste heller ingen forskjell i leverglykogen mellom en behandlingsgruppe som ble fôret, og en som ble sultet i 2 måneder (Aas-Hansen *et al.*, 2005a). Denne konserveringen av leverglykogen kan være en adaptasjon blant dyr som gjennomgår lengre, naturlige perioder med sult (Aas-Hansen *et al.*, 2005a), der sult i seg selv ikke er en stressfaktor. Dette er også naturlig, i og med at glykogenlageret i leveren uansett er lite energimessig (se 4.1.3). Det er foreslått at for slike arter konserveres leverglykogen til det oppstår et akutt behov for energi, for eksempel i forbindelse med eksponering til kortvarige stressituasjoner (Vijayan *et al.*, 1993).

Samtidig som leverglykogenlagrene holdt seg stabile, ble også plasmaglukosemengden opprettholdt. Dette er mulig gjennom aktivering av glukoneogenesen (Weatherley & Gill, 1987b; Vijayan *et al.*, 1993; Navarro & Gutiérrez, 1995). Gjennom den vil andre kilder enn karbohydrater, som laktat, glukogene aminosyrer og glycerol fra katabolisert TAG omdannes til glukose (Cahill, 1976; Navarro & Gutiérrez, 1995; McCue, 2010). Glukoneogenesen er ansett å være den viktigste kilden for leverglukoseproduksjon i karnivore fisker, uavhengig av metabolsk tilstand (Moon & Foster, 1995). I forbindelse med glukoneogenese i lever, er det flere av de undersøkte enzymene som er sentrale (Ala-AT, Asp-AT, LDH og PEPCK).

Når det gjelder rapportering av leverenzymaktiviteten i forbindelse med sult, ble det fordelmessig å relatere denne til leverstørrelsen relativ til kroppsstørrelsen (HSI). Da de fleste fiskearter, deriblant røye (tabell 3), opplever en reduksjon i HSI ved sult, vil også leverkapasiteten tilgjengelig for metabolske prosesser reduseres (Foster & Moon, 1991). Det var en generell trend at den totale leverkapasiteten til alle undersøkte enzymer ble redusert fra midtveis til slutten av forsøksperioden, men i flere tilfeller var ikke reduksjonen signifikant (tabell 4). Reduksjoner i enzymaktivitet er blant annet funnet i sulteforsøk på torsk (*Gadus morhua*) (Guderley *et al.*, 1996), gulabbor (*Perca flavescens*) (Foster & Moon, 1991) og rødspette (*Pleuronectes platessa*) (Moon & Johnston, 1980). I et tidligere forsøk gjort på anadrom røye, ble det ikke funnet en forskjell i leverenzymkapasiteten mellom fisk føret og sultet i 2 måneder. Denne perioden var sannsynligvis ikke lang nok for å indusere responsen på sult sett i dette forsøket, og hadde blant annet ingen signifikant innvirkning på HSI (Aas-Hansen *et al.*, 2005a).

Enzymkapasiteten for leverenzymmer forbundet med glukoneogenese (Ala-AT, Asp-AT, LDH og PEPCK), holdt seg på et stabilt nivå fram til midtveis i forsøket (tabell 4). På tross av langvarig sult, og en forventet reduksjonen av metabolisme, opprettholdt fisken i behandlingsgruppa sult leverkapasiteten til å danne glukose fra aminosyrer ved hjelp av Ala-AT og Asp-AT. Alanin blir sett på som en av de to viktigste aminosyrene med tanke på glukoneogenesen (McCue, 2010 og referanser herunder). Samtidig opprettholdtes kapasiteten til å bruke laktat som substrat i glukoneogenesen ved hjelp av LDH (Campbell & Farrell, 2006). Enzymet PEPCK er et nøkkelenzym i selve glukoneogenesen gjennom omdanning av oksalacetat til fosfoenolpyruvat som omdannes videre til pyruvat (Campbell & Farrell, 2006). Ved forsøksslutt var det en signifikant reduksjon av LDH sammenliknet med midtveis i forsøket (tabell 4). Det var derimot ingen signifikant reduksjon for Ala-AT, Asp-AT og

PEPCK, noe som tyder på at kapasiteten til glukoneogenese fortsatt var tilstede ved forsøkslutt. Dette samsvarer med det faktum at konsentrasjonen av glukose i plasma bare viste en svak reduksjon mot slutten av forsøket.

Av kroppsfett er det i hovedsak TAG som mobiliseres først ved sult (Love, 1980; Navarro & Gutiérrez, 1995). Ved lengre tids sult vil også fosfolipider kunne nyttiggjøres (Wilkins, 1967). TAG vil vanligvis mobiliseres samtidig med eller etter glykogenmobiliseringen og før en eventuell proteinmobilisering (Navarro & Gutiérrez, 1995). Den prosentmessige andelen av kroppsfett i vårt forsøk ble signifikant redusert fra midtveis i forsøket (06.05), til neste sampling tre uker etterpå, og fra denne samlingen til siste sampling ved forsøkslutt (tabell 1). I lys av signifikante reduksjoner i kroppsvekt mellom hvert uttak gjennom hele forsøket (figur 1) tyder dataene på at kroppsfett ble mobilisert tidlig, og i økende grad fra midtveis i forsøksperioden. Mobilisering av fettlagrene startet dermed før mobilisering av leverglykogenlagrene.

Leverenzymkapasiteten til HOAD, som er et nøkkelenzym i  $\beta$ -oksidasjonen der fettsyrer brytes ned (Murata et al., 2002; Campbell & Farrell, 2006), holdt seg på et stabilt nivå fra forsøksstart til midtveis i forsøksperioden. Dette antyder at fett bruktes som en energikilde i leveren i denne perioden. Ved forsøkslutt var det en signifikant reduksjon av enzymkapasiteten til HOAD i lever (tabell 3). Røye lagrer derimot fett hovedsakelig i muskel, skjellet og intraperitonealt (Jørgensen et al., 1997; Jobling et al., 1998), og  $\beta$ -oksidasjonkapasiteten er mye høyere i muskel enn i lever hos laksefisk (Stubhaug et al., 2005).

For at fisken skal overleve, er det nødt å være noe fett igjen i kroppen; strukturelle, umettede fettsyrer og fosfolipider som er med på å opprettholde blant annet membranfluiditet og membranstruktur er kritisk for overlevelse (Wilkins, 1967; Love, 1980). Newsome & Leduce (1975) fant at kritisk kroppsfettmengde for overlevelse til gulabbor var 2,2 %. I en studie gjort på villfanget fisk, ble gjennomsnittlig kroppsfettmengde til individer av ketalaks (*Oncorhynchus keta*) og smolt av pukkelaks (*Oncorhynchus gorbuscha*) bestemt til å være henholdsvis  $1,4 \pm 0,09$  % og  $1,0 \pm 0,05$  % (Iverson et al., 2002). Ved forsøkslutt i vårt forsøk var den gjennomsnittlige kroppsfettprosent meget lav ( $1,25 \pm 1,21$  %) for den uttatte fisken (tabell 1). Kroppsfettandelen nærmet seg sannsynligvis et kritisk lavt nivå, og det var ikke mye lagringsfett igjen å oksidere.

Enzymet G6PDH katalyserer en reaksjon der nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat (NADPH) produseres. NADPH er blant annet nødvendig for fettsyresyntese (Campbell & Farrell, 2006). Leverenzymkapasiteten for G6PDH ble redusert gjennom forsøket, og reduksjonen var signifikant fra midtveis til forsøksslutt (tabell 3). Hung *et al.* (1997) og Foster & Moon (1991) fant liknende reduksjoner i NADPH produserende enzymer blant sultet fisk. Bastrop *et al.* (1992) fant lavere enzymaktiviteter for G6PDH hos sultet fisk sammenliknet med fisk fôret til metning.

Når det gjelder proteiner må omdannelsen av aminosyrer til glukose i lever (ved hjelp av Ala-AT og Asp-AT), der kapasiteten for glukoneogenese er størst (Moon & Johnston, 1980), sees i sammenheng med bruk av aminosyrer og proteiner som endogen energikilde.

Muskelproteiner er den største energikilden i kroppen (Blasco *et al.*, 1992), og nyttes som energikilde blant annet ved sult eller kjønnsmodning (Weatherley & Gill, 1987b). Imidlertid vil proteinene vanligvis spares i starten av en sultetilstand, ved at proteolysen starter når mer tilgjengelige energikilder som glykogen og TAG er i ferd med å brukes opp (Weatherley & Gill, 1987a; Navarro & Gutiérrez, 1995). Selv om det er antatt at den prosentvise andelen protein (uttrykt som rest) holdt seg stabil gjennom vårt forsøk (tabell 1), ble den totale mengden kroppsprotein redusert (figur 4), i og med at vekta til fisken ble signifikant redusert mellom hver sampling gjennom hele forsøket (figur 1). Det var derfor en proteinmobilisering hos fisk i behandlingsgruppa sult, sannsynligvis gjennom store deler av forsøksperioden. Mobiliseringen økte i andre halvdel av forsøket sammenliknet med første halvdel (tabell 2). Dette skjedde mens det fortsatt var energilagret tilgjengelig i form av fett (tabell 1). Dette har tidligere vært observert for annen laksefisk som regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*) (Kullgren *et al.*, 2010) og ørret (*Salmo trutta fario*) (Navarro *et al.*, 1992). En mobilisering av proteiner kan virke uventet, men dette må sees i sammenheng med at fisken sannsynligvis var i en negativ energistatus allerede lenge før forsøket startet.

#### **4.1.3 Energibidrag fra glykogen, fett og proteiner**

Energibidraget fra fett og proteiner gjennom forsøksperioden var på henholdsvis 217 kJ og 120 kJ for fisk av behandlingsgruppe sult. Til sammenlikning var energibidraget fra leverglykogen samme periode på 0,7 kJ. I en større sammenheng var dermed energibidraget fra leverglykogen forsvinnende lite. Selv om proteiner representerer den største energikilden i



kroppen (Weatherley & Gill, 1987b; Blasco *et al.*, 1992), er det fett som står for det største energibidraget i løpet av sulteperioden på 3 måneder, med et energibidrag ca 1,8 ganger større enn fra proteiner. Når dette er sagt var det en økende grad av proteinmobilisering i forhold til fettmobilisering i andre halvdel av forsøket (tabell 2). Samtidig var kroppsfettprosenten så lav ved forsøksslutt, at denne delen av de endogene kroppsreservene neppe kunne bidratt med særlig mer energi hvis sultefasen hadde vart lengre. I et slikt tilfelle måtte fisken ha basert seg nesten utelukkende på proteiner som energikilde.

## **4.2 Behandlingsgruppe fôr**

Vi har i dette forsøket avdekket store variasjoner blant fisk som mottok fôr med tanke på fôrinntak og vekst. Behandlingsgruppe fôr var derfor ikke en ensartet gruppe gjennom forsøket, noe som medførte at fisken i denne behandlingsgruppen ble inndelt i flere undergrupper for presentasjon av resultater, basert på når i forsøket individene startet å øke i vekt. I den videre diskusjonen tar vi opp faktorer som kan ha vært årsak til den store heterogeniteten i fiskens vektøkningstidspunkt i behandlingsgruppe fôr. Vi vil også diskutere sesongendringer i appetitt, vekst, og metabolske prosesser.

### **4.2.1 Vektøkningstidspunkt og undergruppeinndeling**

Av figur 7 kan man se at individene begynte å øke i vekt ved forskjellige tidspunkt gjennom forsøksperioden, men det var også stor variasjon i vektøkning innad i hver undergruppe i de første periodene, noe som fremgår av den høye CV-verdien for TGC (tabell 8). Det er ikke overraskende at variasjonen var stor i første vektøkningsperiode for den enkelte undergruppe, da individene kan ha startet å spise ved forskjellige tidspunkt i starten av perioden. Samtidig har det nok vært forskjellig grad av vektøkning blant individene. CV-verdien ser imidlertid ikke ut til å komme ned på et lavt nivå før i siste periode for undergruppe 1 og 2. Dette kan henge sammen med to ting. For det første kan det ha variert hvor lang tid individene brukte på å omstille det metabolske apparatet til aktivt fôrinntak etter en sulteperiode, hvor metabolismen normalt nedreguleres (Wieser, 1991). Det er vist for flere fiskearter at fordøyelsesapparatet påvirkes under en sulteperiode, der både tarmlengde, antall blindsekker, og enzymatisk kapasitet kan reduseres (Jobling, 1980; McLeese & Moon, 1989; Rios *et al.*, 2004; Krogdahl & Marie Bakke-McKellep, 2005). Dette er en viktig tilpasning fisk har for å redusere metabolismen under sult, da den metabolske raten er spesielt høy i fordøyelsesvevet

(Wang *et al.*, 2006; McCue, 2010). For det andre steg TGC signifikant fra nest siste periode til siste periode for undergruppe 1, 2 og 3, samtidig med at CV-verdien var betydelig lavere enn det den var i foregående periode for de tre nevnte undergruppene. Dette peker videre på at det kan ha vært en sesongmessig oppregulering i appetitt og fôrinntak i siste periode, ettersom den signifikante økningen i TGC gjelder for flere av undergruppene. Det er tidligere vist at Svalbardrøye styres av sesongmessige svingninger med hensyn til fôrinntak og vekst, med et høyt fôrinntak og en høy vekst på våren (Damsgård *et al.*, 1999).

#### **4.2.2 Mulige årsaker til ulike vektøkningstidspunkt**

Det kan i utgangspunktet være flere mulige forklaringer på hvorfor individene innen behandlingsgruppe fôr fremviste ulike vektøkningstidspunkt gjennom forsøksperioden. Det ene er om hvorvidt enkelte individer var i ferd med å smoltifisere under forsøksperioden. Det er tidligere vist at en populasjon av røye kan bestå av både anadrome og residente individer. Anadrome og residente individer har et felles genetisk opphav, og hver form kan gi opphav til den andre formen (Nordeng, 1983). Man har funnet at røyepopulasjonen i Vårfluesjøen på Svalbard, som forsøksfisken vi brukte opprinnelig stammer ifra, består av både anadrome og residente individer (Svenning, 2001). Thorpe *et al.* (1998) foreslo at individer av Atlantisk laks (*Salmo salar*) gjennomgår et migrasjonsvindu på sensommeren, der individene vurderer sin energetiske status samt vekstrate opp mot en genetisk terskel. De individene som har en status som overstiger den genetiske terskelen, velger å smoltifisere og å migrere ut i sjøen påfølgende vår. Rikardsen *et al.* (2004) foreslo at livshistoriemodellen for Atlantisk laks også kunne gjøres gjeldende for røye. På bakgrunn av dette skulle man tro at en del av de smoltifiserende individene i vårt forsøk ble sortert ut under etablering av behandlingsgrupper den 8. og 9. mars 2010. Vi gjorde en visuell utsortering av individer, der bare de individene som så ut til å ha sultet ble tatt med i forsøksgruppene. Individer som velger å migrere skal etter modellen til Thorpe *et al.* (1998) ha best energetisk status, og dermed er det grunn til å tro at en del anadrome individer ble valgt bort i vårt forsøk. Imidlertid kan vi ikke utelukke at individene som ble tatt med i forsøket smoltifiserte under forsøksperioden. Hvis vi tar utgangspunkt i kroppslengden, som har blitt foreslått som en mulig terskel for smoltifisering hos både Atlantisk laks (Skilbrei, 1991) og hos røye (Gulseth *et al.*, 2001), finner vi at individene i vårt forsøk var større enn det som tidligere er rapportert som mulig terskellengde. Gulseth *et al.* (2001) foreslo at individer av røye må ha en kroppslengde på over 25 cm for at de skal kunne respondere på fotoperiodesignaler som trigger smoltifiseringsprosessen, mens

Jørgensen *et al.* (2007) fant at oppdrettet avkom av villfanget anadrom røye med en gjennomsnittskroppslengde på 19,2 cm smoltifiserte allerede etter ett år, noe som er 3 til 5 år tidligere enn det som er rapportert hos vill anadrom røye (Rikardsen & Elliott, 2000). Individene i vårt forsøk hadde en kroppslengde på rundt 26 cm ved forsøksstart (figur 8), og var på dette tidspunkt 2 år gamle. Dette skulle dermed være tilstrekkelig for å kunne smoltifisere. Det må nevnes at vi ikke gjorde noen tester av metabolske parametre som kan indikere smoltifisering ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase-aktivitet og plasmaklorid-måling), slik at vi ikke har noe sikkert mål på andel av smoltifiserende individer i forsøksgruppene. På tross av sortering før forsøksstart, er det altså ikke usannsynlig at smoltifisering fant sted, og dermed kan ha hatt en innvirkning på vektøkningstidspunkt.

En annen mulig forklaring på at individene fremviste ulike vektøkningstidspunkt, kunne være at de som i utgangspunktet hadde lavest nivå av kroppsreserver hadde behov for tidligere spisestart enn individene som fremviste vektøkning senere. Denne teorien ville i så fall kondisjonsfaktoren kunne gi en indikasjon på. Gjennom en regresjonsmodell (tabell 14) fant vi at kondisjonsfaktoren forklarer 56 % av variabiliteten i fettinnholdet hos individer fra begge behandlingsgrupper. Kryssvalideringen av modellen var derimot dårlig (figur 16). Dette betyr at kondisjonsfaktoren nok ikke gir et veldig presist bilde av energistatus hos individene, men mer en indikasjon på denne. Av figur 9 ser man at kondisjonsfaktoren til undergruppe 1 var høyere enn de andre undergruppene kondisjonsfaktor ved forsøksstart 25.03. Faktisk var kondisjonsfaktoren hos undergruppe 1 signifikant høyere enn kondisjonsfaktoren til undergruppe 2, 4, og 5. Det tyder dermed ikke på at undergruppe 1 fremviste tidligere vektøkning enn de andre undergruppene på grunn av lav energistatus, da de faktisk hadde høyest kondisjonsfaktor ved forsøksstart.

Hierarkidannelse er et kjent fenomen blant laksefisk, påvist både i laboratorieforsøk (Noakes & Leatherland, 1977) og i mer naturlige omgivelser (Nakano, 1995). Hierarkidannelsen vil kunne føre til at underordnede individer utsettes for kronisk stress, noe som reduserer appetitt, fôrintak og vekst (Jobling, 1985). Hvis det hadde vært hierarkidannelse i våre forsøkskar, kunne det ha vært en årsak til ulike vektøkningstidspunkt blant individene. Det er imidlertid ting som taler imot at det utviklet seg sosiale hierarki i særlig grad i karene under forsøksperioden. Vi hadde en forholdsvis høy fisketetthet i forsøkskarene ( $48 \text{ kg/m}^3$ ), og generelt for røya er at den trives godt ved høye tettheter. Tettheter over  $20 \text{ kg/m}^3$  fremmer stimatferd og hindrer aggressiv atferd (Wallace *et al.*, 1988; Jobling *et al.*, 1993; Jørgensen *et*

*al.*, 1993). I tillegg ble karene i vårt forsøk forsynt med en sirkulær strøm, noe som også fremmer stimadferd og hindrer aggressiv adferd hos røya, samt at det sørger for god spredning av fôrpartikler (Christiansen & Jobling, 1990). En annen ting som også antyder at det ikke utviklet seg sosiale hierarki i stor utstrekning i karene er det faktum at alle individene i undergruppe 5 fremviste vektøkning i løpet av en seksukers periode i tiden etter at forsøket ble avsluttet, noe de sannsynligvis ikke ville ha gjort hvis de var sosiale tapere.

Vi fant at fisk som viste morfologiske tegn på kjønnsmodning den 17.08 hadde signifikant større sannsynlighet for å tilhøre undergruppe 1 og 2, enn undergruppe 3 og 4, og undergruppe 5. Dette peker i retning av at kjønnsmodning kan ha vært en influerende årsak til at noen individer startet vektøkning tidligere. I Thorpe *et al.* (1998) ble det foreslått at individene gjennomgår et modningsvindu i november, der fettnivået i kroppen, samt graden av reduksjon av fettnivået, vurderes opp mot en genetisk terskel. De individene som har høyest fettnivå velger å kjønnsmodne neste år. I april neste år inntreffer et nytt modningsvindu der individene har mulighet til å ombestemme seg med tanke på modning eller ikke modning. Fettnivået vurderes på nytt opp mot den genetiske terskelen. Hvis fettnivået fortsatt vurderes å være tilstrekkelige, fortsetter modningsprosessen. Damsgård *et al.* (1999) fant at individer av Hammerfest- og Svalbardrøye som skulle kjønnsmodne til høsten var signifikant større enn umoden fisk på sommeren. På bakgrunn av dette kan modningsstatus har vært en årsak til at individer begynte å øke i vekt ved forskjellig tidspunkt under forsøksperioden, der individene som skulle kjønnsmodne begynte å spise tidligere enn individene som ikke skulle kjønnsmodne. Imidlertid var det bare 60 % av individene i undergruppe 1 som viste tegn på kjønnsmodning, noe som betyr at det også var individer som fremviste tidlig vektøkning uten at de kjønnsmodnet. Hvis kjønnsmodningsstrategien skissert i Thorpe *et al.* (1998) hadde vært avgjørende for tidlig vektøkningstidspunkt hos undergruppe 1, skulle man forvente at en større andel av individene i undergruppe 1 hadde kjønnsmodnet. Det kan imidlertid være at en del av individene i undergruppe 1 stoppet modningsprosessen på grunn av at de hadde et fettnivå som lå under den genetiske terskelen. Dette ville i så fall forklare hvorfor 40 % av individene i undergruppe 1 ikke viste morfologiske tegn på kjønnsmodning den 17.08.

Det at det også var individer som kjønnsmodnet i de andre undergruppene tyder på at noen individer valgte en senere spisestart til tross for at de var på et kjønnsmodningsspor. I undergruppe 3 og 4 var det 33 % av individene som viste tegn på kjønnsmodning, mens kun

12 % av individene i undergruppe 5 viste tegn på kjønnsmodning. Årsaken til dette, samt at 40 % av individene i undergruppe 1 ikke viste tegn til modning, kan i fremtidige forsøk undersøkes nærmere ved å følge opp individuell energistatus gjennom forsøket. Dette kan gjøres ved hjelp av bioelektrisk impedans, og beregning av fettinnhold ut ifra vanninnhold (se 4.5).

### 4.2.3 Levermetabolisme

Flere av leverenzymene (tabell 11) i undergruppe 1 hadde en signifikant oppregulering av katalytisk kapasitet, eller en tendens til en oppregulering, fra første til tredje sampling. Dette hang først og fremst sammen med at HSI økte 1,5 ganger i samme periode (tabell 10).

### 4.2.4 Fettmetabolismen oppreguleres

Vi fant en signifikant økning i kapasiteten for enzymene som er involvert i enten biosyntese av fettsyrer (G6PDH), eller i  $\beta$ -oksidasjon av fettsyrer (HOAD) hos undergruppe 1 (tabell 11). Økningen for G6PDH representerte nesten en firedobling, og tyder på at leverens evne til å syntetisere fettsyrer økte. Fettsyrer syntetiseres fra acetyl-CoA, som kan lages fra enten  $\beta$ -oksidasjon av fettsyrer eller pyruvat fra glykolysen (Campbell & Farrell, 2006). Av acetyl-CoA kan det videre dannes malonyl-CoA, som er et nøkkelintermediat i fettsyresyntesen. Tre og tre fettsyrer kan videre inkorporeres med glycerol og danne TAG, som er hovedlagringsformen for fett i kroppen (Campbell & Farrell, 2006). Av figur 10A ser man at undergruppe 1 akkumulerte fett gjennom forsøksperioden, og økningen for G6PDH kan derfor sees i sammenheng med dette. Walzem *et al.* (1991) fant at en økning i leverkapasiteten for G6PDH korrelerte med en økning i vekst hos regnbueørret, noe som underbygger vår konklusjon. Det er imidlertid grunn til å tro at en god del av det akkumulerte fett hos undergruppe 1 også stammet fra en direkte deponering av fett ifra fôret som individene fikk under forsøksperioden. Økningen for HOAD (tabell 11) tyder på at kapasiteten for  $\beta$ -oksidasjon av fettsyrer der acetyl-CoA dannes, oppregulertes. Dette kan dermed sees i sammenheng med både økt kapasitet for fettsyresyntese, og økt energiproduksjon fra fettsyrer gjennom at acetyl-CoA entrer sitronsyresyklusen og elektrontransportkjeden.

#### 4.2.5 Glukoneogenese

Undergruppe 1 hadde en trend til økning av enzymkapasiteten for de glukoneogenetiske enzymene (Ala-AT, Asp-AT, LDH, og PEPCK), selv om oppreguleringen bare var signifikant for LDH og PEPCK. Det at økningen av Ala-AT og Asp-AT var mindre enn økningen for LDH, kan tyde på at laktat fra anaerob glykolyse ble foretrukket fremfor glykogene aminosyrer som substrat for glukoneogenesen. Det er tidligere blitt rapportert at laktat trolig er det viktigste substratet for glukoneogenese hos fisk (Moon *et al.*, 1985). Den signifikante oppreguleringen av PEPCK kan sees i sammenheng med oppreguleringen av LDH, Asp-AT og Ala-AT. Dette fordi PEPCK, som tidligere nevnt, er et nøkkelenzym i selve glukoneogenesen.

Økningen av de glukoneogenetiske enzymene kan sees i sammenheng med et økt behov for glukose som energikilde. Dette i forbindelse med økt metabolisme som en følge av et større matinntak på vårparten da forsøket ble kjørt. Formulerte fôrpartikler har normalt et forholdsvis lavt innhold av karbohydrater, og fôrtypen som ble gitt behandlingsgruppe fôr under forsøksperioden (Nutra Parr 2.0) hadde et lavt karbohydratinnhold (7-8 % stivelse). Dette medfører at et økt energibehov må møtes gjennom økt glukoneogenetisk aktivitet, og kan således forklare økningen av de glukoneogenetiske enzymene. Det er tidligere vist at diettsammensetning påvirker glukoneogenetisk enzymaktivitet hos fisk. Cowey *et al.* (1977) fôret regnbueørret med en høyproteindiett og en høykarbohydratdiett, og fant at aktiviteten for nøkkelenzymet PEPCK var høyest hos individene som fikk høyproteindiett. På bakgrunn av dette kan det lave karbohydratinnholdet i Nutra Parr 2.0 være med på å forklare trenden til en oppregulering av kapasiteten til de glukoneogenetiske enzymene når kroppsmetabolismen økte. I lys av dette er det heller ikke overraskende at vi fant en signifikant økning for kapasiteten til det glykolytiske enzymet PK, som indikerer økt energiproduksjon fra glukose.

#### 4.2.6 Oppregulering av metabolsk apparat

En generell oppregulering av nivået for det metabolske enzymapparatet kan også forklare den gjennomgående trenden til økning i enzymkapasitet hos undergruppe 1 (tabell 11). For enzymene som hadde en signifikant økning i løpet av forsøksperioden (G6PDH, HOAD, LDH, PEPCK, og PK), kom økningen fra 25.03 til 06.05. Det var ingen signifikant økning fra 06.05 til 17.06 for noen av enzymene. Pelletier *et al.* (1994) fant at den totale enzymaktiviteten til seks forskjellige enzymer, deriblant HOAD, i torskelever, økte med

økende vekstrate hos torsken. I en annen studie ble det vist at aktiviteten av fire fettsyresynteseenzymer, deriblant G6PDH, i lever hos regnbueørret, økte i samsvar med økt spiserate og økt spesifikk vekstrate (Bastrop *et al.*, 1992). I lys av dette kan det tenkes at individene i undergruppe 1 oppregulerte det metabolske enzymapparatet i løpet av forsøket, på basis av økt fôrinntak og høy vekst. Svalbardrøya fremviser sesongmessige svingninger i matinntak, med høyt matinntak og høy vekst på våren/sommeren, og lavere matinntak og vekst på høsten (Damsgård *et al.*, 1999). Det er derfor naturlig at individene gradvis økte matinntaket i løpet av forsøksperioden våren 2010, som en naturlig sesongvariasjon. Det justerte fôrinntaket (figur 6) sier ikke noe om fôrinntaket til undergruppe 1 isolert sett, men gruppen mer enn doblet kroppsvekten gjennom forsøksperioden (figur 7), noe som indikerer at gruppen hadde et høyt fôrinntak gjennom forsøket. Sammenligner man enzymkapasiteten til undergruppe 1 med undergruppe 5, som tapte vekt gjennom forsøksperioden, finner man en signifikant økning for kun ett av enzymene (Ala-AT) hos undergruppe 5. Denne økningen kom fra 06.05 til 17.06. Dette tyder ytterligere på at oppreguleringen av enzymapparatet hos undergruppe 1 hang sammen med fôrinntak og vekst.

### **4.3 Sammenlikning av behandlingsgruppe sult og behandlingsgruppe fôr**

Det var en mye større heterogenitet i fôrgruppa enn i sultegruppa ved forsøksslutt. Den store heterogeniteten i fôrgruppa skyldtes forskjeller mellom individene i forhold til tidspunktet hvor fôrinntak og vekst begynte.

#### **4.3.1 Utvikling og kjønnsmodning**

På tross av at mange individer innen behandlingsgruppa fôr ikke kjønnsmodnet, var det en signifikant høyere andel av individer fra fôrgruppa enn sultegruppa som viste tegn til modning ved siste observasjonspunkt. Selv om vi antar at en like stor andel av individer fra hver av behandlingsgruppene ble ført inn på et kjønnsmodningsspor før forsøket, hemmet åpenbart sult kjønnsmodningen, noe som ble påvist tidlig for laksefisk (Scott, 1962; Bagenal, 1969).

### 4.3.2 Plasmakortisol og plasmaglukose

Som det fremgår av figur 11 var det en effekt av tid for gjennomsnittsverdiene av plasmakortisol for kar 1 og 2. Vi avdekket ingen effekt av behandling eller undergruppe. Vi fant imidlertid en signifikant effekt av kar for plasmaverdiene, der kar 1 (figur 11 A) og kar 2 (figur 11 B) hadde konsistent høyere plasmaverdier enn sine respektive replikater. Det er nærliggende å tro at kareffekten henger sammen med at kar 1 og 2 var lokalisert nærmest døren ut til korridoren, og at individene i karene slik har blitt stresset av trafikk i korridoren og inn til forsøksrommet. Eksponering til stressorer som bråk og trafikk forbi karene kan trigge økte plasmanivå av kortisol hos fisk (Barton & Iwama, 1991; Mommsen *et al.*, 1999).

Kortisol spiller en rolle i energimobilisering når dyr blir utsatt for ugunstige miljøforhold, og produseres gjennom aktivering av hypothalamus-hypofyse-hodenyreaksen (Wendelaar Bonga, 1997). Tidligere forsøk som blant annet undersøkte effekten av sult på plasmakortisolnivåer hos røye fant både en økning (Jørgensen *et al.*, 2002) og ingen effekt (Jørgensen *et al.*, 1999) av sult. Forsøk på annen laksefisk påviste ingen forskjell i plasmakortisol mellom fisk føret og sultet over lengre perioder (Vijayan *et al.*, 1993; Pottinger *et al.*, 2003). Det har derfor vært foreslått at for arter som opplever lengre perioder med naturlig sult, har ikke kortisol noen rolle med tanke på energimobilisering. Økninger i plasmakortisol vil da kun skje i forbindelse med situasjoner hvor det er akutt behov for energimobilisering (Vijayan *et al.*, 1993).

Det var en trend til økning i plasmakortisol midtveis hos begge behandlingsgruppene, selv om økningen bare var signifikant for kar 1 og kar 2. For disse to karene oppsto det som nevnt sannsynligvis en kareffekt/korridoreffekt. Det er flere andre faktorer som kan ha influert på økningen av kortisolnivåene, foruten stress. Elementer som sosiale hierarki (Øverli *et al.*, 1999) og smoltifisering (Aas-Hansen *et al.*, 2003) er også vist å kunne influere på plasmakortisol hos røye. Hierarkidannelse har, som tidligere nevnt, neppe inntruffet i dette forsøket. Kortisol er et av flere hormoner som er assosiert med økte plasmanivåer under smoltifiseringsprosessen hos laksefisk (Boeuf, 1993). I et tidligere forsøk på røye fra Vårfluesjøen fant man en plasmakortisoløkning i mai parallelt med en økning i gjellenes  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase-aktivitet (som reflekterer utvikling av hypoosmoregulatorisk kapasitet) (Aas-Hansen *et al.*, 2003). Økningen av plasmakortisolnivåer midtveis i forsøket kan derfor ha hatt en sammenheng med smoltifisering hos enkelte individer.



Vi fant en signifikant effekt av tid for plasmaverdier av glukose hos begge behandlingsgrupper. Økte plasmaverdier av glukose er en av flere effekter av kortisols energimobiliseringsrolle (Bamberger *et al.*, 1996; Mommsen *et al.*, 1999), og Aas-Hansen *et al.* (2005a) fant at kortisol-behandling økte frigjøring av glukose i hepatocytter isolert fra sultet røye. Det antas derfor at økningen i plasmaglukosenivå midtveis i forsøket var forårsaket av økningen i plasmakortisolnivå, selv om den positive korrelasjonen mellom nivåene av plasmakortisol og plasmaglukose var forholdsvis lav ( $R^2 = 0,27$ ).

#### **4.4 Sammenlikning av behandlingsgruppe sult og undergruppe 5 i behandlingsgruppe fôr**

På mange måter oppførte fisk fra undergruppe 5 i behandlingsgruppe fôr (fisk som ikke økte i vekt gjennom forsøksperioden) seg likt som fisk fra behandlingsgruppe sult gjennom forsøksperioden. Dette gjaldt for leverparametere som glykogen og de fleste enzymene (tabell 13), kroppssammensetning (figur 12) og andel fisk som viste tegn til kjønnsmodning etter forsøket. På noen områder skilte de seg derimot noe fra hverandre, blant annet med tanke på TGC ved første og siste periode av forsøket (tabell 12).

I den siste perioden av forsøket, da gjennomsnittlig TGC til fisk i sultegruppa var signifikant lavere enn foregående perioder, opprettholdtes den på et stabilt nivå i undergruppe 5 slik at det var en signifikant forskjell i TGC mellom disse to gruppene i denne perioden. Selv om fisk i undergruppe 5 ikke økte i vekt i dette tidsrommet, er det likevel indikasjoner på at i alle fall enkelte individer i gruppa spiste noe i deler av forsøket. De hadde et lavere vekttap enn fisk i sultegruppa, og blant uttatt fisk i denne undergruppa, ble det observert magetarminnhold blant 40 % av individene. Maten de inntok må derimot ha vært mindre enn vedlikeholdsrasjonen, da de ikke økte i vekt. Dette avspeiles i gruppenes gjennomsnittlige energimobilisering gjennom forsøket. Mens fisk i sultegruppa mobiliserte 340 kJ fra endogene energireserver, mobiliserte undergruppe 5 i behandlingsgruppa fôr 280 kJ i den samme perioden. Dette understreker at noen fisk fra undergruppe 5 spiste i deler av forsøksperioden. Legger man til grunn at undergruppe 5 tilegnet seg differansen i energi mellom gruppene i form av fôr, og fôret hadde en fordøyelighet på 92,5 % (Christian Olsen, Skretting, Stavanger, Norge, pers med) tilsvarer dette 60 kJ eller kun 2,8 g fôr pr fisk gjennom hele forsøksperioden (21,3 fordøyelig kJ/g fôr).

Det at også undergruppe 5, som behandlingsgruppe sult, hadde en signifikant lavere TGC ved siste halvdel enn første halvdel av forsøket, kan ha å gjøre med et økt energikrav i denne perioden, som for hos behandlingsgruppe sult. Selv om det ikke var noen signifikante forskjeller mellom gruppene med tanke på leverparametere, med unntak av aktiviteten til HOAD 6. mai og Ala-AT 17. juni (tabell 13), var det noen trender som skilte seg ut mellom disse gruppene. Sultgruppa opplevde en tydelig, signifikant reduksjon av leverkapasitet av HOAD, G6PDH og LDH samt en trend til nedregulering av leverkapasiteten til de glukoneogenetiske enzymene Ala-AT, Asp-AT og PEPCCK gjennom forsøksperioden (tabell 4). Det gjorde ikke undergruppe 5 (tabell 11), som dermed opprettholdt leverkapasiteten til å oksidere og syntetisere fett gjennom forsøksperioden, samt evnen til å danne laktat av pyruvat. Dette må sees i sammenheng med at undergruppe 5 ikke hadde noen signifikant endring av HSI gjennom forsøksperioden (tabell 10). Det lille fôrintaket enkelte individer i undergruppa hadde kan dermed ha virket til å hindre nedreguleringen av leverkapasiteten til enzymer involvert i metabolske prosesser. Vi må derimot ikke glemme at datagrunnlaget for undergruppe 5 er noe svakere enn for sultgruppa, pga. færre individer ved enkelte samlinger. Dette gjør blant annet de statistiske testene mindre robuste, spesielt ved uttaket ved forsøksslutt (N = 2).

Med unntak av at fisk i undergruppe 5 spiste minimalt gjennom forsøksperioden, samt kanskje ikke nedregulerte en del av sitt metabolske apparat i like stor grad som fisk fra behandlingsgruppe sult, viste fisk som gjennomgikk påtvunget sult klare likheter med fisk som sannsynligvis gjennomgikk ”naturlig” sult gjennom forsøksperioden.

#### **4.5 Modellering av fettinnhold**

Det å kunne predikere sammensetningen til fisken uten å måtte avlive den eller ved å bruke kjente verdier av andre kroppssammensetningskomponenter vil spare en for både tid og kostnader.

Vannmodellen (figur 13), viser at ved å beregnet vanninnholdet i røya, vil man på en nokså sikker måte kunne predikere fettinnholdet. I vår modell forklarte vanninnholdet hele 87 % av variabiliteten i fettinnholdet (tabell 14), samt gav en god kryssvalidering (figur 15). Dette var ikke uventet, da man tidligere har funnet et inverst forhold mellom fett- og vanninnhold i fisk (Love, 1980). Det er vist i flere forsøk at for feite fiskearter utgjør fett- og vanninnhold til

sammen ca 80 % av kroppsvekta (Love, 1980 og referanser herunder). Det er mulig å predikere fettinnhold fra vanninnhold for flere fiskearter. I et forsøk av Hartman & Margraf (2008) fant man gode korrelasjoner mellom fett- og vanninnhold for ketalalaks (*Oncorhynchus keta*), bekkerøye (*Salvelinus fontinalis*), blåfisk (*Pomatomus saltatrix*) og stripet havabbor (*Morone saxatilis*), der vanninnhold forklarte mellom 74 og 94 % av variabiliteten i fettinnholdet. Analyse av fettinnhold er noe mer tidskrevende enn analyse av vanninnhold, og predikeringen av fettinnholdet vil dermed kunne spare en for tid og kostnader. Ved å måle vanninnholdet i fisken uten å måtte ta livet av den, som er mulig ved bioelektrisk impedans (Cox & Hartman, 2005; Hanson *et al.*, 2010), har man muligheten til å foreta repeterte predikeringer av fettinnholdet til den samme fisken gjennom forsøksperioden.

Kondisjonsmodellen (figur 14) er mindre egnet enn vannmodellen til å predikere fettinnholdet i røya. I vårt forsøk var det en signifikant korrelasjon mellom kondisjonsfaktor og fettinnhold (tabell 14), og kondisjon forklarte 56 % av variabiliteten i fettinnholdet. Ved kryssvalidering av modellen ble det derimot klart at den ikke var tilstrekkelig god for å predikere fettinnhold (figur 16). For individer som sulter over lengre tid kan det tenkes at kondisjonsfaktor gir et dårlig bilde av fettlagrene, på grunn av mobiliseringsmønsteret i løpet av sulteperioden. Faktisk forklarte modellen over 70 % av variabiliteten i fettinnholdet når kun individer fra undergruppe 1, behandlingsgruppe før ble inkludert (egne observasjoner).

Relativt svake, men signifikante korrelasjoner mellom kondisjonsfaktor og fettinnhold er funnet i tidligere forsøk. Rennie & Verdon (2008) fant at kondisjonsfaktoren forklarte 38 % av variabiliteten i fettinnholdet i sik (*Coregonus clupeaformis*), mens Pangle & Sutton (2005) fant at tilsvarende verdi for juveniler av *Coregonus artedi* var på rundt 60 %. Neff & Cargnelli (2004) fant at kondisjonsfaktor forklarte omtrent 40 % av variabiliteten i tettheten til ikke-polarart fett hos blågjellet solabbor (*Lepomis macrochirus*). Et problem med disse arbeidene er at det har blitt konkludert med at kondisjonsfaktor er en god indikator på fettinnhold eller energistatus, på bakgrunn av en signifikant korrelasjon mellom disse parameterene. Man har derimot ikke kryssvalidert modellen, noe som gjør konklusjonen mindre sikker.

## **4.6 Fremtidig forskning**

I tillegg til uttatt vev nevnt i metodekapitlet, ble det tatt ut hjernevev for alle samplede individer. Dette betyr at man har tilgjengelig vev for å kunne analysere på neuropeptider som er med på å regulere appetitten hos fisk (Volkoff *et al.*, 2005). Dette er interessant i forbindelse med oppreguleringen av metabolismen og fordøyelsessystemet som vi så blant fisk i behandlingsgruppe fôr, der slike neuropeptider kan ha en sentral rolle (Wang *et al.*, 2006). Nå har vi identifisert individer som sultet ”naturlig” gjennom forsøksperioden, individer som økte i vekt gjennom samme periode og individer som opplevde påført sult. Samtidig har vi grundige data for biokjemiske parametere for disse individene. Ved å inkludere appetittregulerende neuropeptider, vekstfremmende hormoner samt melatonin (Strand *et al.*, 2008), vil dette kunne gi et grundig modellsystem for å beskrive de store sesongmessige endringene i blant annet matinntak og vekst som røya opplever.

## 5.0 Konklusjon

- *Hva skjer med kroppssammensetningen og energireservene blant røye som sultes i forlengelsen av en vinterfase med lite eller ingen matinntak? Hvordan reguleres eventuelt dette av leverenzymmer?*
- Røye som ble sultet i forlengelse av en vinterfase mobiliserte både kroppsfett og kroppsprotein. Leverglykogen ble ikke mobilisert før seks uker ut i forsøket. Kapasiteten for glukoneogenetiske leverenzymmer (Ala-AT, Asp-AT og PEPCK) så ut til å bevares, noe som førte til at plasmaglukosenivå ble holdt relativt stabile. Kapasiteten for leverenzymmer, sentrale i forbindelse med fettsyremetabolisme (HOAD og G6PDH), ble signifikant redusert gjennom forsøksperioden. Rundt halvparten av vekttapet blant den sultede fisken skyldtes tap av vann.
  
- *Hva skjer med kroppssammensetningen og energireservene blant røye som mottar fôr i forlengelsen av en vinterfase med lite eller ingen matinntak? Hvordan reguleres eventuelt dette av leverenzymmer?*
- Kjønnsmodning fremskynder sannsynligvis første matinntak samt vektøkning på senvinteren/våren hos røye. Fisk som økte i vekt gjennom hele forsøksperioden viste deponering av fett, proteiner og leverglykogen. En kraftig kapasitetsøkning av et leverenzym (G6PDH) involvert i fettsyresyntese relateres til fettdeponeringen. Det metabolske apparatet så ut til å oppreguleres i takt med økende vekst blant denne fisken. Fisk som ikke økte i vekt gjennom forsøksperioden var sammenliknbare med fisk som ble sultet, men hadde et noe lavere vekttap.
  
- *Lar det seg gjøre å modellere fettinnholdet i røyen?*
- Vanninnhold er en parameter som gir grunnlag for en god modell for predikering av fettinnhold hos røye. Kondisjonsfaktor er en mindre god parameter til å predikere fettinnholdet.

## 6.0 Referanseliste

- Ali, M., Nicieza, A. & Wootton, R.J. (2003) Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. *Fish and Fisheries* **4**. 147-190
- Allen, W.V. (1976) Biochemical Aspects of Lipid Storage and Utilization in Animals. *American Zoologist* **16**. 631-647
- Amundsen, P.-A. & Knudsen, R. (2009) Winter ecology of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) and brown trout (*Salmo trutta*) in a subarctic lake, Norway. *Aquatic Ecology* **43**. 765-775
- Bagenal, T.B. (1969) The Relationship Between Food Supply and Fecundity in Brown Trout *Salmo trutta* L. *Journal of Fish Biology* **1**. 167-182
- Bamberger, C.M., Schulte, H.M. & Chrousos, G.P. (1996) Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. *Endocrine Reviews* **17**. 245-261
- Barton, B.A. & Iwama, G.K. (1991) Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases* **1**. 3-26
- Bastrop, R., Jürss, K. & Wacke, R. (1992) Biochemical parameters as a measure of food availability and growth in immature rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **102**. 151-161
- Bendiksen, E.Å., Jobling, M. & Arnesen, A.M. (2002) Feed intake of Atlantic salmon parr *Salmo salar* L. in relation to temperature and feed composition. *Aquaculture Research* **33**. 525-532
- Berg, O.K. & Berg, M. (1993) Duration of Sea and Fresh Water Residence of Arctic Char (*Salvelinus Alpinus*), from the Vardnes River in Northern Norway. *Aquaculture* **110**. 129-140
- Blasco, J., Fernandez, J. & Gutierrez, J. (1992) Fasting and Refeeding in Carp, *Cyprinus Carpio* L. - the Mobilization of Reserves and Plasma Metabolite and Hormone Variations. *Journal of Comparative Physiology - Part B: Biochemical Systemic and Environmental Physiology* **162**. 539-546
- Boeuf, G. (1993) Salmonid smolting: a pre-adaption to the oceanic environment. I: Rankin, J.C. & Jensen, F.B. (red.), *Fish Ecophysiology*, vol. 9. Chapman & Hall, London. 105-125
- Boivin, T.G. & Power, G. (1990) Winter Condition and Proximate Composition of Anadromous Arctic Charr (*Salvelinus Alpinus*) in Eastern Ungava Bay, Quebec. *Canadian Journal of Zoology* **68**. 2284-2289
- Bottengård, L. & Jørgensen, E.H. (2008) Elevated spring temperature stimulates growth, but not smolt development, in anadromous Arctic charr. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* **151**. 596-601
- Cahill, G.F. (1976) Starvation in Man. *Clinics in Endocrinology and Metabolism* **5**. 397-415
- Campbell, M.K. & Farrell, S.O. (2006) *Biochemistry*. Thomson, Southbank, Australia
- Christiansen, J.S. & Jobling, M. (1990) The behaviour and the relationship between food intake and growth of juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L., subjected to sustained exercise. *Canadian Journal of Zoology* **68**. 2185-2191
- Cowey, C.B., Knox, D., Walton, M.J. & Adron, J.W. (1977) Regulation of Gluconeogenesis by Diet and Insulin in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). *British Journal of Nutrition* **38**. 463-470
- Cox, M.K. & Hartman, K.J. (2005) Nonlethal estimation of proximate composition in fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **62**. 269-275

- Creac'h, Y. & Cournède, C. (1965) Contribution to the study of enforced starvation in the carp, *Cyprinus caprio* L.; variations in the amount of water and nitrogen in the tissue. *Bulletin de la Societe d'Histoire Naturelle de Toulouse* **100**. 361-370
- Damsgård, B., Arnesen, A.M. & Jobling, M. (1999) Seasonal patterns of feed intake and growth of Hammerfest and Svalbard Arctic charr maturing at different ages. *Aquaculture* **171**. 149-160
- Foster, G.D. & Moon, T.W. (1991) Hypometabolism with Fasting in the Yellow Perch (*Perca flavescens*): A Study of Enzymes, Hepatocyte Metabolism, and Tissue Size. *Physiological Zoology* **64**. 259-275
- French, C.J., Hochachka, P.W. & Mommsen, T.P. (1983) Metabolic organization of liver during spawning migration of sockeye salmon. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **245**. 827-830
- Frøiland, E., Murashita, K., Jørgensen, E.H. & Kurokawa, T. (2010) Leptin and ghrelin in anadromous Arctic charr: Cloning and change in expressions during a seasonal feeding cycle. *General and Comparative Endocrinology* **165**. 136-143
- Guderley, H., Dutil, J.D. & Pelletier, D. (1996) The physiological status of Atlantic cod, *Gadus morhua*, in the wild and the laboratory: Estimates of growth rates under field conditions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **53**. 550-557
- Gulseth, O.A. & Nilssen, K.J. (2000) The brief period of spring migration, short marine residence, and high return rate of a northern Svalbard population of Arctic char. *Transactions of the American Fisheries Society* **129**. 782-796
- Gulseth, O.A., Steen, K. & Nilssen, K.J. (2001) Seawater tolerance in captive high-Arctic Svalbard charr (*Salvelinus alpinus*): effect of photoperiod and body size. *Polar Biology* **24**. 276-281
- Hanson, K.C., Ostrand, K.G., Gannam, A.L. & Ostrand, S.L. (2010) Comparison and Validation of Nonlethal Techniques for Estimating Condition in Juvenile Salmonids. *Transactions of the American Fisheries Society* **139**. 1733 - 1741
- Hartman, K.J. & Margraf, F.J. (2008) Common relationships among proximate composition components in fishes. *Journal of Fish Biology* **73**. 2352-2360
- Hung, S.S.O., Liu, W., Li, H.B., Storebakken, T. & Cui, Y.B. (1997) Effect of starvation on some morphological and biochemical parameters in white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture* **151**. 357-363
- Huusko, A., Greenberg, L., Stickler, M., Linnansaari, T., Nykänen, M., Vehanen, T., Koljonen, S., Louhi, P. & Alfredsen, K. (2007) Life in the ice lane: The winter ecology of stream salmonids. *River Research and Applications* **23**. 469-491
- Iverson, S.J., Frost, K.J. & Lang, S.L.C. (2002) Fat content and fatty acid composition of forage fish and invertebrates in Prince William Sound, Alaska: factors contributing to among and within species variability. *Marine Ecology Progress Series* **241**. 161-181
- Iwama, G.K. (1996) Growth of salmonids. I: Pennell, W. & Barton, B.A. (red.), *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, vol. 29. Elsevier, Amsterdam. 467-515
- Jobling, M. (1980) Effects of starvation on proximate chemical composition and energy utilization of plaice, *Pleuronectes platessa* L. *Journal of Fish Biology* **17**. 325-334
- Jobling, M. (1985) Physiological and Social Constraints on Growth of Fish with Special Reference to Arctic Charr, *Salvelinus Alpinus* L. *Aquaculture* **44**. 83-90
- Jobling, M. & Baardvik, B.M. (1991) Patterns of Growth of Maturing and Immature Arctic Charr, *Salvelinus Alpinus*, in a Hatchery Population. *Aquaculture* **94**. 343-354
- Jobling, M., Jørgensen, E.H., Arnesen, A.M. & Ringø, E. (1993) Feeding, growth and environmental requirements of Arctic charr: a review of aquaculture potential. *Aquaculture International* **1**. 20-46

- Jobling, M. (1994) *Fish bioenergetics*. Chapman & Hall, London
- Jobling, M., Johansen, S.J.S., Foshaug, H., Burkow, I.C. & Jørgensen, E.H. (1998) Lipid dynamics in anadromous Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.): seasonal variations in lipid storage depots and lipid class composition. *Fish Physiology and Biochemistry* **18**. 225-240
- Johansen, S.J.S., Ekli, M., Stangnes, B. & Jobling, M. (2001) Weight gain and lipid deposition in Atlantic salmon, *Salmo salar*, during compensatory growth: evidence for lipostatic regulation? *Aquaculture Research* **32**. 963-974
- Johnson, L. (1980) The arctic charr, *Salvelinus alpinus*. I: Balon, E.K. (red.) *Charrs. Salmonid Fishes of the Genus Salvelinus*, vol. 1. Dr. W. Junk, The Hague. 15-98
- Johnston, I.A. (1981) Quantitative analysis of muscle breakdown during starvation in the marine flatfish *Pleuronectes platessa*. *Cell and Tissue Research* **214**. 369-386
- Jørgensen, E.H., Christiansen, J.S. & Jobling, M. (1993) Effects of stocking density on food intake, growth performance and oxygen consumption in Arctic charr (*Salvelinus Alpinus*). *Aquaculture* **110**. 191-204
- Jørgensen, E.H., Johansen, S.J.S. & Jobling, M. (1997) Seasonal patterns of growth, lipid deposition and lipid depletion in anadromous Arctic charr. *Journal of Fish Biology* **51**. 312-326
- Jørgensen, E.H., Bye, B.E. & Jobling, M. (1999) Influence of nutritional status on biomarker responses to PCB in the Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquatic Toxicology* **44**. 233-244
- Jørgensen, E.H., Vijayan, M.M., Aluru, N. & Maule, A.G. (2002) Fasting modifies Aroclor 1254 impact on plasma cortisol, glucose and lactate responses to a handling disturbance in Arctic charr. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology* **132**. 235-245
- Jørgensen, E.H., Aas-Hansen, Ø., Moriyama, S., Iwata, M. & Tau Strand, J.E. (2007) The parr-smolt transformation of Arctic charr is comparable to that of Atlantic salmon. *Aquaculture* **273**. 227-234
- Kepler, D. & Decker, K. (1974) Glycogen Determination with Amyloglucosidase. I: Bergmeyer, H.U. (red.) *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, New York. 1127-1131
- Kleinbaum, D.G., Kupper, L.L., Nizam, A. & Muller, K.E. (2007) *Applied Regression Analysis and Other Multivariable Methods*. Duxbury Press, Boston
- Klemetsen, A., Amundsen, P.A., Dempson, J.B., Jonsson, B., Jonsson, N., O'Connell, M.F. & Mortensen, E. (2003) Atlantic salmon *Salmo salar* L., brown trout *Salmo trutta* L. and Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.): a review of aspects of their life histories. *Ecology of Freshwater Fish* **12**. 1-59
- Krogdahl, Å. & Marie Bakke-McKellep, A. (2005) Fasting and refeeding cause rapid changes in intestinal tissue mass and digestive enzyme capacities of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* **141**. 450-460
- Kullgren, A., Samuelsson, L., Larsson, D.G.J., Björnsson, B.T. & Bergman, E. (2010) A metabolomics approach to elucidate effects of food deprivation in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **299**. 1440-1448
- Larsson, Å. & Lewander, K. (1973) Metabolic effects of starvation in the eel, *Anguilla anguilla* L. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **44**. 367-374
- Love, R.M. (1980) *The Chemical Biology of Fishes*. Academic Press, London



- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. & Randall, R.J. (1951) Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *Journal of Biological Chemistry* **193**. 265-275
- McCue, M.D. (2010) Starvation physiology: Reviewing the different strategies animals use to survive a common challenge. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* **156**. 1-18
- McLeese, J.M. & Moon, T.W. (1989) Seasonal changes in the intestinal mucosa of winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum), from Passamaquoddy Bay, New Brunswick. *Journal of Fish Biology* **35**. 381-393
- Miglavs, I. & Jobling, M. (1989) The Effects of Feeding Regime on Proximate Body Composition and Patterns of Energy Deposition in Juvenile Arctic Charr, *Salvelinus alpinus*. *Journal of Fish Biology* **35**. 1-11
- Mommsen, T.P., Vijayan, M.M. & Moon, T.W. (1999) Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **9**. 211-268
- Moon, T.W. & Johnston, I.A. (1980) Starvation and the activities of glycolytic and gluconeogenic enzymes in skeletal muscles and liver of the plaice, *Pleuronectes platessa*. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* **136**. 31-38
- Moon, T.W., Walsh, P.J. & Mommsen, T.P. (1985) Fish Hepatocytes: A Model Metabolic System. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **42**. 1772-1782
- Moon, T.W. & Foster, G.D. (1995) Tissue carbohydrate metabolism, gluconeogenesis and hormonal and environmental influences. I: Hochachka, P.W. & Mommsen, T.P. (red.), *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*, vol. 4. Elsevier, Amsterdam. 65-100
- Morata, P., Vargas, A.M., Sánchez-Medina, F., Garcia, M., Cardenete, G. & Zamora, S. (1982) Evolution of gluconeogenic enzyme activities during starvation in liver and kidney of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* **71**. 65-70
- Mrosovsky, N. & Sherry, D. (1980) Animal anorexias. *Science* **207**. 837-842
- Murata, M., Sano, Y., Ishihara, K. & Uchida, M. (2002) Dietary fish oil and *Undaria pinnatifida* (Wakame) synergistically decrease rat serum and liver triacylglycerol. *Journal of Nutrition* **132**. 742-747
- Nagai, M. & Ikeda, S. (1971) Carbohydrate Metabolism in Fish - I. Effects of Starvation and Dietary Composition on the Blood Glucose level and the Hepatopancreatic Glycogen and Lipid Contents in Carp. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* **37**. 404-409
- Nakano, S. (1995) Individual Differences in Resource Use, Growth and Emigration under the Influence of a Dominance Hierarchy in Fluvial Red-Spotted Masu Salmon in a Natural Habitat. *Journal of Animal Ecology* **64**. 75-84
- Nash, C.E. (2011) *The History of Aquaculture*. Wiley-Blackwell, Ames
- Navarro, I., Gutiérrez, J. & Planas, J. (1992) Changes in plasma glucagon, insulin and tissue metabolites associated with prolonged fasting in brown trout (*Salmo trutta fario*) during two different seasons of the year. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **102**. 401-407
- Navarro, I. & Gutiérrez, J. (1995) Fasting and starvation. I: Hochachka, P.W. & Mommsen, T.P. (red.), *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*, vol. 4. Elsevier, New York. 393-434
- Neff, B.D. & Cargnelli, L.M. (2004) Relationships between condition factors, parasite load and paternity in bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*. *Environmental Biology of Fishes* **71**. 297-304

- Newsome, G.E. & Leduc, G. (1975) Seasonal changes of fat content in the yellow perch (*Perca flavescens*) of two Laurentian lakes. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **32**. 2214-2221
- Noakes, D. & Leatherland, J. (1977) Social dominance and interrenal cell activity in rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Pisces, Salmonidae). *Environmental Biology of Fishes* **2**. 131-136
- Nordeng, H. (1983) Solution to the "char problem" based on Arctic char (*Salvelinus alpinus*) in Norway. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **40**. 1372-1387
- Ombres, E.H., Donnelly, J., Clarke, M.E., Harms, J.H. & Torres, J.J. (2011) Aerobic and anaerobic enzyme assays in Southern California Rockfish: Proxies for physiological and ecological data. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **399**. 201-207
- Pangle, K.L. & Sutton, T.M. (2005) Temporal changes in the relationship between condition indices and proximate composition of juvenile *Coregonus artedii*. *Journal of Fish Biology* **66**. 1060-1072
- Pelletier, D., Dutil, J.D., Blier, P. & Guderley, H. (1994) Relation between growth rate and metabolic organization of white muscle, liver and digestive tract in cod, *Gadus morhua*. *Journal of Comparative Physiology - Part B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* **164**. 179-190
- Pottinger, T.G., Rand-Weaver, M. & Sumpter, J.P. (2003) Overwinter fasting and re-feeding in rainbow trout: plasma growth hormone and cortisol levels in relation to energy mobilisation. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology* **136**. 403-417
- Quinn, G.P. & Keough, M.J. (2002) *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. University Press, Cambridge
- Radtke, R., Svenning, M., Malone, D., Klements, A., Ruzicka, J. & Fey, D. (1996) Migrations in an extreme northern population of Arctic charr *Salvelinus alpinus*: Insights from otolith microchemistry. *Marine Ecology Progress Series* **136**. 13-23
- Rennie, M.D. & Verdon, R. (2008) Development and Evaluation of Condition Indices for the Lake Whitefish. *North American Journal of Fisheries Management* **28**. 1270 - 1293
- Rikardsen, A.H. & Elliott, J.M. (2000) Variations in juvenile growth, energy allocation and life-history strategies of two populations of Arctic charr in North Norway. *Journal of Fish Biology* **56**. 328-346
- Rikardsen, A.H., Thorpe, J.E. & Dempson, J.B. (2004) Modelling the life-history variation of Arctic charr. *Ecology of Freshwater Fish* **13**. 305-311
- Rios, F.S., Kalinin, A.L., Fernandes, M.N. & Rantin, F.T. (2004) Changes in gut gross morphology of traíra, *Hoplias malabaricus* (Teleostei, Erythrinidae) during long-term starvation and after refeeding. *Brazilian Journal of Biology* **64**. 683-689
- Sargent, J.R., Tocher, D.R. & Bell, J.G. (2002) The Lipids. I: Halver, J.E. & Hardy, R.W. (red.), *Fish Nutrition*, vol. 3. Academic Press, San Diego. 181-257
- Schulz, R. (1985) Measurement of five androgens in the blood of immature and maturing male rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Richardson). *Steroids* **46**. 717-726
- Scott, D.P. (1962) Effect of Food Quantity on Fecundity of Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **19**. 715-731
- Sheridan, M.A. & Mommsen, T.P. (1991) Effects of nutritional state on in vivo lipid and carbohydrate metabolism of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *General and Comparative Endocrinology* **81**. 473-483
- Simpkins, D.G., Hubert, W.A., del Rio, C.M. & Rule, D.C. (2003) Interacting effects of water temperature and swimming activity on body composition and mortality of fasted juvenile rainbow trout. *Canadian Journal of Zoology* **81**. 1641-1649

- Skilbrei, O.T. (1991) Importance of Threshold Length and Photoperiod for the Development of Bimodal Length Frequency Distribution in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **48**. 2163-2172
- Sokal, R.R. & Rohlf, J.F. (1981) *Biometry: The Principles and Practices of Statistics in Biological Research* W. H. Freeman and Co, New York
- Strand, J.E.T., Aarseth, J.J., Hanebrekke, T.L. & Jørgensen, E.H. (2008) Keeping track of time under ice and snow in a sub-arctic lake: plasma melatonin rhythms in Arctic charr overwintering under natural conditions. *Journal of Pineal Research* **44**. 227-233
- Stubhaug, I., Frøyland, L. & Torstensen, B.E. (2005)  $\beta$ -Oxidation Capacity of Red and White Muscle and Liver in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) - Effects of Increasing Dietary Rapeseed Oil and Olive Oil to Replace Capelin Oil. *Lipids* **40**. 39-47
- Svenning, M.-A. (2001) Røyeotolitten (ørsteinen) som ferdsruver hos Svalbardrøye. *Ottar* **5**. 25-31
- Svenning, M.-A., Klemetsen, A. & Olsen, T. (2007) Habitat and food choice of Arctic charr in Linnévatn on Spitsbergen, Svalbard: the first year-round investigation in a High Arctic lake. *Ecology of Freshwater Fish* **16**. 70-77
- Sæther, B.S. (1995) *Sesongvariasjoner i fôrinntak og vekst hos røye (Salvelinus alpinus) eksponert for konstant og simulert naturlig daglengde*. Hovedoppgave i Havbruk, Universitetet i Tromsø
- Sæther, B.S., Johnsen, H.K. & Jobling, M. (1996) Seasonal changes in food consumption and growth of Arctic charr exposed to either simulated natural or a 12:12 LD photoperiod at constant water temperature. *Journal of Fish Biology* **48**. 1113-1122
- Thorpe, J.E., Mangel, M., Metcalfe, N.B. & Huntingford, F.A. (1998) Modelling the proximate basis of salmonid life-history variation, with application to Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Evolutionary Ecology* **12**. 581-599
- Tveiten, H., Johnsen, H.K. & Jobling, M. (1996) Influence of maturity status on the annual cycles of feeding and growth in Arctic charr reared at constant temperature. *Journal of Fish Biology* **48**. 910-924
- Tveiten, H., Bjørn, P.A., Johnsen, H.K., Finstad, B. & McKinley, R.S. (2010) Effects of the sea louse *Lepeophtheirus salmonis* on temporal changes in cortisol, sex steroids, growth and reproductive investment in Arctic charr *Salvelinus alpinus*. *Journal of Fish Biology* **76**. 2318-2341
- Vijayan, M.M., Maule, A.G., Schreck, C.B. & Moon, T.W. (1993) Hormonal Control of Hepatic Glycogen Metabolism in Food-deprived, Continuously Swimming Coho Salmon (*Onchorhynchus kisutch*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **50**. 1676-1682
- Volkoff, H., Canosa, L.F., Unniappan, S., Cerda-Reverter, J.M., Bernier, N.J., Kelly, S.P. & Peter, R.E. (2005) Neuropeptides and the control of food intake in fish. *General and Comparative Endocrinology* **142**. 3-19
- Wallace, J.C., Kolbeinshavn, A.G. & Reinsnes, T.G. (1988) The Effects of Stocking Density on Early Growth in Arctic Charr, *Salvelinus Alpinus* (L). *Aquaculture* **73**. 101-110
- Walzem, R.L., Storebakken, T., Hung, S.S.O. & Hansen, R.J. (1991) Relationship between Growth and Selected Liver Enzyme Activities of Individual Rainbow Trout. *The Journal of Nutrition* **121**. 1090-1098
- Wang, T., Hung, C.C.Y. & Randall, D.J. (2006) The Comparative Physiology of Food Deprivation: From Feast to Famine. *Annual Review of Physiology* **68**. 223-251
- Weatherley, A.H. & Gill, H.S. (1987a) Influence of Hormones. I: Weatherley, A.H. & Gill, H.S. (red.), *The biology of fish growth*. Academic Press, London. 177-208

- Weatherley, A.H. & Gill, H.S. (1987b) Protein, Lipid and Caloric Contents. I: Weatherley, A.H. & Gill, H.S. (red.), *The biology of fish growth*. Academic Press, London. 101-146
- Wendelaar Bonga, S.E. (1997) The stress response in fish. *Physiological Reviews* **77**. 591-625
- Wieser, W. (1991) Limitations of Energy Acquisition and Energy Use in Small Poikilotherms - Evolutionary Implications. *Functional Ecology* **5**. 234-240
- Wilkins, N.P. (1967) Starvation of the herring, *Clupea harengus* L.: Survival and some gross biochemical changes. *Comparative Biochemistry and Physiology* **23**. 503-518
- Øverli, Ø., Olsen, R.E., Løvik, F. & Ringø, E. (1999) Dominance hierarchies in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L.: differential cortisol profiles of dominant and subordinate individuals after handling stress. *Aquaculture Research* **30**. 259-264
- Aarseth, J., Frøiland, E. & Jørgensen, E. (2010) Melatonin implantation during spring and summer does not affect the seasonal rhythm of feeding in anadromous Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Polar Biology* **33**. 379-388
- Aas-Hansen, Ø., Johnsen, H.K., Vijayan, M.M. & Jørgensen, E.H. (2003) Development of seawater tolerance and concurrent hormonal changes in fed and fasted Arctic charr at two temperature regimes. *Aquaculture* **222**. 135-148
- Aas-Hansen, Ø., Jørgensen, E.H. & Vijayan, M.M. (2005a) Fasting modulates metabolic responses to cortisol, GH and IGF-I in Arctic charr hepatocytes. *Journal of Fish Biology* **67**. 1631-1645
- Aas-Hansen, Ø., Vijayan, M.M., Johnsen, H.K., Cameron, C. & Jørgensen, E.H. (2005b) Resmoltification in wild, anadromous Arctic char (*Salvelinus alpinus*): a survey of osmoregulatory, metabolic, and endocrine changes preceding annual seawater migration. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **62**. 195-204

## 7.0 Vedlegg

### 7.1 Kvantifisering av kortisol

RadioImmunoAssay (RIA) er en analysemetode som tillater presis måling av for eksempel hormonkonsentrasjoner i små volum av serum, plasma eller andre vev. I RIAs har man overskudd av antigen (for eksempel kjønnshormon) og underskudd av antistoff. Antigenet i en prøve vil konkurrere med en kjent mengde radioaktivt merket ( $^3\text{H}$ ) antigen om bindingssetene til en begrenset mengde antistoff. Når systemet har nådd likevekt separeres frie antigen fra antistoffsbundet antigen, og mengden radioaktivt merket antigen bestemmes i den siste fraksjonen (antistoffbundet antigen) ved hjelp av en scintillasjonsteller ( $\beta$ -stråler). Mengden antistoffbundet radioaktivt merket antigen er inverst proporsjonalt med konsentrasjonen av antigen i prøven. Ved å benytte en rekke fortyninger av en standardløsning med kjent mengde antigen kan man lage en standardkurve, og denne standardkurven kan man videre benytte til å lese av mengden antigen i prøven.

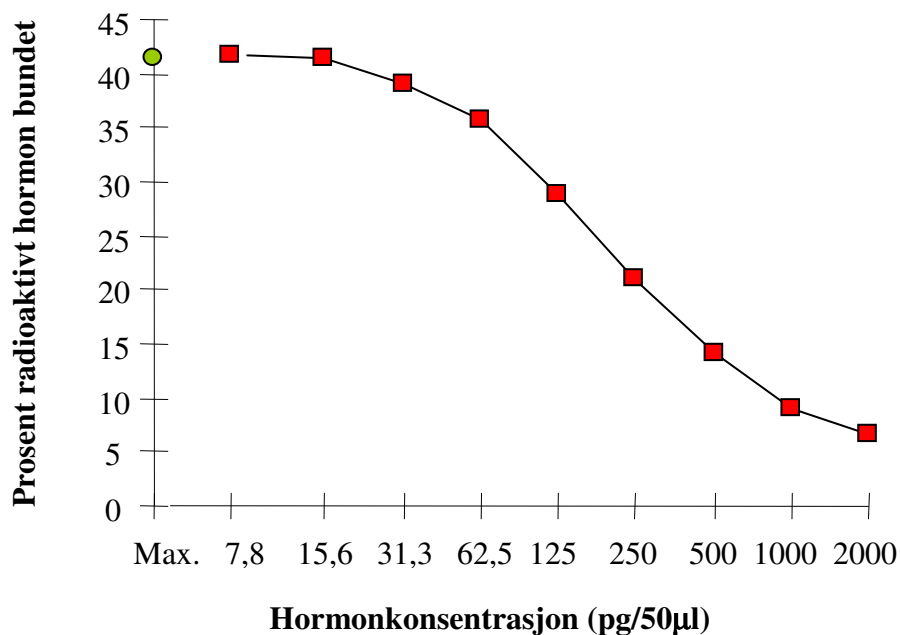


Fig. 1. RIA standardkurve. Etter hvert som den kjente mengden ikke-radioaktivt hormon øker, vil mengden bundet radioaktivt merket hormon gå ned. Når en prøve som inneholder en ukjent mengde hormon analyseres ved hjelp av assayet, er det mengden radioaktivt merket hormon vi måler. Mengden hormon i prøven kan da bestemmes ved å lese av på standardkurven hvilken mengde ikke-radioaktivt hormon som gir tilsvarende radioaktiv målingen.

## Eter ekstrahering

Denne metoden ekstraherer frie steroider fra plasmaet.

Ta ut 300 µl plasma til 16x125 mm glassrør.

Tilsett 4 ml DEE (dietyleter).

Sett til røring i ca. 4 min.

La fryse i flytende nitrogen til vannfasen er frosset.

Dekanter eterfasen over i 12x75 mm glassrør.

Damp av på varmeblokk (evt. i vannbad) ved ca. 45°C under N<sub>2</sub>.

Tilsett 900 µl RIA- buffer (gir en 3x fort.), vortex og la stå i 10-15 min.

Vortex godt og dekanter til eppendorfrør.

## Steroid hormon radioimmunoassay (RIA)

### Arbeidsløsninger:

RIA-buffer pH 7.0 (1 liter)

Gelatin	1,00 g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> +2 H <sub>2</sub> O	4,38 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> + 12 H <sub>2</sub> O	21,84 g
NaCl	9,00 g
Na-azid, 5% løsning	1 ml

Løs gelatinen i ca. 200 ml varmt dH<sub>2</sub>O.

Løs de andre kjemikaliene i ca. 700 ml dH<sub>2</sub>O.

Bland sammen og fyll opp til 1 liter.

### Tracer (<sup>3</sup>H)

Fortynn med RIA-buffer til ca. 10 000 cpm.

### Antistoff

Antistoff fortynnet 1:9 med RIA-buffer lagres ved -80°C.

Fortynn med RIA-buffer til bruksløsning rett før bruk.

Tint AS (1:9) tilsettes noen korn Na-azid og oppbevares i kjøleskap.

### Standardkurve

Standardkurven består av ulike konsentrasjoner av ikke-radioaktivt steroid løst i RIA-buffer.

Steroidet løses og fortynnes i abs. EtOH til 100 µg/ml (stock-løsning).

Stock-løsningen fortynnes først 50x:

50 µl stock (100 µg/ml) + 2450 RIA-buffer ⇒ 100 ng/50 µl (2 µg/ml, std-stock).

Fortynnes videre 50x:

50 µl std-stock (2 µg/ml) + 2450 RIA-buffer ⇒ 2 ng/50 µl (0,04 µg/ml)

⇒ Merk røret S9

Merk 8 sentrifugerør S1-S8 og tilsett 1 ml RIA-buffer i hvert rør. Ta 1 ml fra røret merket S9, overfør til S8 og vortex godt. Dette gjøres tilsvarende for de andre rørene til fortynningsrekka er komplett.

Rør:	Fortynning:
S1	7,8 pg/50 µl
S2	15,6 pg/50 µl
S3	31,2 pg/50 µl
S4	62,5 pg/50 µl
S5	125,0 pg/50 µl
S6	250,0 pg/50 µl
S7	500,0 pg/50 µl
S8	1000,0 pg/50 µl
S9	2000,0 pg/50 µl

### Dextran-coated charcoal løsnings (DCC)

Charcoal, activated	1,00 g
Dextran T70	0,10 g

Løs kjemikaliene i 100 ml RIA-buffer og la løsningen stå i 1 time med magnetrører ved 4°C, lav hastighet, før bruk. Når løsningen har stått må den røres ca. 10-15 min. ved 4°C før bruk.

### **Metode:**

#### **Dag 1**

Lag bruksløsningene.

Tin prøvene (maks 29) ved romtemperatur og vortex. (God tid til å merke rør og pipettere ut standardkurven mens man venter på at prøvene skal tine).

Pipetter ut som vist i pipetterings-skjema nedenfor (Bruk to paralleller, totalt 80 rør), antistoff til slutt. Vortex et par sekunder, dekk til med aluminiumsfolie og inkuber over natt (min. 15-16 timer) ved 4°C.

Ta også ut 600 µl buffer og 50 µl [<sup>3</sup>H] til total count, TC, direkte i tellerør og la stå ved 4°C over natt.

#### **Dag 2**

Sett DCC løsningen til røring ved 4°C i 10-15 min.

Sett prøvene på is, tilsett 300 µl kald DCC og inkuber 5 min. Sentrifuger 5 min, 5000 rpm ved 4°C. (Pass på at det går 5 min. fra klokka startes og til sentrifuga settes på). Sett rackene med prøvene på is. Dekanter supernatanten til tellerør og tilsett 7 ml Ultima Gold XR scintillasjonsvæske. Rist prøvene godt og tell i 5 min. (program 2).

Pipetterings-skjema for RIA (alle volum i µl):

	Buffer	Standard	Prøve	[ <sup>3</sup> H]	Antistoff
<b>TB</b>	100	-	-	50	200
<b>NSB</b>	300	-	-	50	-
<b>Std. S1-S9</b>	50	50	-	50	200
<b>Prøve 1-29</b>	-	-	100	50	200

TB: Total bound

NSB: Non-spesific binding

## 7.2 Leverproteinkvantifisering

### 1. Material

- BCA Protein Assay Kit (Pierce, product# 23227)
- Microplates
- Plate reader
- Pipettes, beakers etc.

### 2. Chemicals

- Ice
- dH<sub>2</sub>O / Tris buffer (50 mM, pH= 7,5)
- BCA Kit reagents (reagent A and B as well as BSA standard vials 2mg/mL)

### 3. Prearrangements

If the samples are stored in the freezer, put them on ice and thaw them carefully.

Turn on the plate reader and let it auto calibrate.

### 4. Working steps

1. Prepare the protein standards with the bovine serum albumin solution (2mg/mL)  
Standard concentration may be as follows:  
2,5 µg/10µL, 5 µg/10µL, 10 µg/10µL and 20 µg/10µL.

Standard [µg/10µL]	BSA std. 2mg/ml [µL]	dH <sub>2</sub> O [µL]	Total volume [µL]
Blank	0,0	100	100
2,5	12,5	87,5	100
5	25	75	100
10	50	50	100
20	100	0	100

Use Tris-buffer or dH<sub>2</sub>O for the dilution; depending on which of them was used to dilute the samples.

2. Take a 96- well microplate and pipette **10 µL** of the blank and each standard into a well; do triplicates  
Pay attention to correct pipetting (e.g. air bubbles)
3. Make sure all samples are mixed well, then pipette **10 µL** of each sample into one well. Do triplicates as well.
4. Afterwards prepare the BCA and copper solution adequate to the number of wells used.

The solution should always be prepared just before its usage. It can not be made in advance and be stored due to its light sensitivity

No. of wells used	BCA reagent A [mL]	BCA reagent B Copper solution [mL]	Total volume [mL]
24	6,0	0,12	6,12
36	8,5	0,17	8,67
48	11,0	0,22	11,22
72	15,0	0,3	15,3
96	21,0	0,42	21,42
192	42,0	0,84	42,84



5. Now add **200 µL** of the BCA + copper solution to each well. It's best if this is done by using a repeater pipette.
6. Cover the plate with the lid or a piece of foil and incubate at **37 °C** for at least **30 minutes** in the incubator.
7. Make sure the Plate reader is on.
8. Use the program SOFTmaxPro and choose Protocol – Protein measurement - BCA method. Then set up the template with the blank, standards and the present number of unknown samples.  
Type the concentration of the standards and ensure that the correct units are selected. Then choose “setup” and select “endpoint” for the instrument setting. Set the wavelength to 562 and select AUTOMIX “before first read” for 10 seconds. The standard curve should be set to “linear fit”
9. When the incubation time is complete, cool the plate down to room temperature (5 min.), use a Kleenex to dust of the bottom of the plate and place it in the plate reader.
10. Select “READ” and observe to ensure that the program is running smoothly.
11. Check that the CV [%] is below 10 percent! If it is above 10 percent it's possible that the pipetting was not done carefully enough or that the samples were not mixed well. Samples should then be repeated.

## 5. Calculation

After the plate has been read, the program displays the concentration for the unknown samples. It has been derived from the standard curve. The displayed concentration is given in µg/10µL and should be converted to mg/mL.

This value must then be multiplied with the dilution factor (10 mL homogenate + 990 mL dH<sub>2</sub>O = dilution factor 100)

The result is the protein content in mg/ml within the exact weight of the tissue sample (e.g. 117 mg liver tissue). If the content should be given within 100 mg tissue, the concentration should be calculated back to this weight.

## 7.3 Leverenzymkvantifisering

### 1. Prepare imidazole buffer

Amount needed ca 300 mL per 100 samples

Prepare 500 mL and keep in the fridge. It's stable for a long time

For 500 mL 1,702 g imidazole is required. Wear breathing protection and gloves while working with the crystals. Fill up with dH<sub>2</sub>O and adjust pH to 7,5 with HCl.

### 2. Take samples for the enzyme assays from the -20 freezer.

Put them on ice!

### 3. Prepare the dilutions

Use imidazole buffer to dilute the samples and put them on ice!

(put original samples back to the freezer)

### 4. Prepare the solutions needed for the assays.

The solutions are prepared in imidazole buffer

24 mL of the NADH solutions is enough for 2 measurements

(only stable for 4 h)

### 5. Prepare the microwell plates

Put a 96 microwell plate on a piece of aluminium foil and cover it with the lid, to avoid stains and dust.

### 6. Turn on plate reader.

It will auto calibrate (about 4 minutes)

**7. Pipette** 20  $\mu\text{L}$  of the samples into each well. Use 3 wells per sample.  
 Use triplicates when you start on a new enzyme. When it works use duplicates.  
 Add 20  $\mu\text{L}$  of imidazole buffer  
 Add 200  $\mu\text{L}$  of NADH solution

The total volume in the wells is always 250  $\mu\text{L}$   
 NADH solution is always 200  $\mu\text{L}$   
 Substrate solution is always 10  $\mu\text{L}$   
 Remaining 40  $\mu\text{L}$  are imidazole buffer and sample  
 Adjust the amount of imidazole buffer to the amount of sample  
 e.g. 20  $\mu\text{L}$  sample + 20  $\mu\text{L}$  buffer or  
 10  $\mu\text{L}$  sample + 30  $\mu\text{L}$  buffer

**8.** Wipe of the bottom of the 96 well plate with a tissue and place in the drawer  
 Select read. 20 minutes

**9.** After the Blank has been read. Save the File.

**10.** Add the 10  $\mu\text{L}$  of substrate! Bee fast (reason why only half of the plate is used)  
 Do this close to the plate reader and keep drawer open to save time.

Select read again. You will be asked to replace the previous measurement (do this)  
 After 20 minutes measurement save the new file.

Data:

Adjust the lag time of the measurement with the substrate to the most linear part of the slope  
 (only the linear part represents the activity!)

Calculate the activity by the following:

- 1) The protein concentration of the original homogenate (measured using the BCA method) must be adjusted for its dilution into the homogenization buffer. This will give the actual protein concentration of the samples used for enzyme analysis. For example, if 75  $\mu\text{L}$  of the original homogenate was added to 75  $\mu\text{L}$  of homogenization buffer then this is a 2x dilution, hence the protein concentration of the original homogenate would be divided by 2. If the sample was, in turn, diluted in imidazole buffer, make sure to take this dilution into account also
- 2) The mean result of the blank (samples+soup) must be subtracted from the mean result of the samples+substrate and this must be multiplied by (-1). This will give a positive value that represents the change in absorbance in O.D./min.
- 3) The result obtained in 2) can then be multiplied by 25 (which is derived from the fact that the total volume in each well was 250  $\mu\text{L}$  and only 10  $\mu\text{L}$  of this 250 consisted of the sample) and then divided by 6220 (which is derived from the fact that the extinction coefficient of NADH is 6,22  $\text{mmol}/\text{cm}^2$ ). This will give a number corresponding to the enzyme activity in  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}$ .
- 4) The result obtained in 3) can then be multiplied by 1000 and then divided by the actual protein concentration calculated in 1). This will give a number corresponding to the enzyme activity per gram of protein.

**Step 3) may be summarized as follows:**

$$\frac{\text{value from 2) OD/min}}{6,22 \text{ mmol/cm}} \times \frac{250 \mu\text{L}}{10 \mu\text{L}} \times \frac{1 \text{ mmol}}{1000 \mu\text{mol}} \times \frac{1 \text{ mL}}{1000 \mu\text{L}} \times \frac{1000 \text{ mOD}}{1 \text{ OD}} = \text{_____ } \mu\text{mol} / \text{min} / \text{mL}$$

**Step 4) gives the activity in  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$  of protein by using the following equation:**

$$\frac{\text{Value from 3) } \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}}{\text{Value from 1) } \text{mg}/\text{mL}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = \text{_____ } \mu\text{mol} / \text{min} / \text{g}$$

## 7.4 Kvantifisering av leverglukose og leverglykogen

### 1. Material

- Glucose Assay Kit (Randox, product # GL1611)
- Cuvettes
- Spectrophotometer
- Incubator
- Pipettes, beakers etc.

### 2. Chemicals

- Glucose Standard 1mg/mL
- Perchloric acid 35%
- Potassium bicarbonate ( $\text{KHCO}_3$ )
- Amyloglucosidase
- Sodium acetate
- Glacial acetic acid ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ )
- $\text{dH}_2\text{O}$  / Tris- buffer

### 3. Prearrangements

- Prepare the potassium bicarbonate solution (molarity of 3M).
- Prepare the acetate buffer (for 1L: 9,75g sodium acetate, 4,8 mL glacial acetic acid; fill up to 1 L with  $\text{dH}_2\text{O}$ . Can be stored in the fridge for a long time, but if it gets cloudy discard and prepare freshly)
- Prepare the amyloglucosidase solution with a concentration of 1mg/mL in acetate buffer. Volume required depends on the number of samples. Need per sample: 500  $\mu\text{L}$
- Adjust the incubator to 40°C

### 4. Working steps

1. Take the samples for glucose and glycogen (stored in 35% PCA, with 80  $\mu\text{L}$  homogenate and 9  $\mu\text{L}$  PCA) from the -20 freezer and thaw them on ice carefully. Keep them on ice during the whole experiment.
2. Prepare blanks with 80  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}$  and 9  $\mu\text{L}$  PCA, treat them as samples in the following
3. Vortex all samples
4. Spin all the samples at 13.000 x g for 5 minutes.  
After this start to prepare the samples for the hydrolysis (breaking the glycogen down into glucose)
5. Take 50  $\mu\text{L}$  of the sample (don't forget the blank samples) and add to a clean 1,5 mL Eppendorf tube.
6. Now add 25  $\mu\text{L}$   $\text{KHCO}_3$  solution (3M) to every tube in order to adjust the pH.
7. Add 500  $\mu\text{L}$  of amyloglucosidase solution (1mg/mL), which breaks down the glycogen, to the tubes.
8. Afterwards incubate the samples at 40°C for two hours.
9. 30 minutes before the incubation time is over proceed with working. Turn on the spectrophotometer in order to let it auto calibrate.

10. Prepare the glucose standards for the calibration curve. Choose standards according to concentration and given concentration of standard stock solution given in the Glucose Assay Kit. Most likely it will be 1mg/mL.
11. After incubation, add 25  $\mu$ L 35% PCA to each tube in order to stop the reaction of amyloglucosidase.
12. Vortex well
13. Spin tubes for 2 minutes
14. Take 50  $\mu$ L of the solution and transfer it to a clean Eppendorf tube
15. Add 50  $\mu$ L of  $\text{KHCO}_3$  solution and vortex well
16. Now prepare the samples for the measurement of the endogenous glucose. Spin them again for 5 minutes at 13.000 x g.
17. Take 50  $\mu$ L from the original samples (thawed on ice) and add it to a clean Eppendorf tube
18. Add 50  $\mu$ L of  $\text{KHCO}_3$  solution and vortex well
19. Now take 10  $\mu$ L of each standard, blank and Sample and add it to one cuvette; use duplicates of each sample
20. Add 1 000  $\mu$ L of the Buffer R1a solution from the Kit , mix and measure the absorbance (A1)
21. Then add 10  $\mu$ L of Enzyme Reagent R1b from the Kit, mix and incubate at room temperature for 20 minutes.
22. Measure absorbance A2.

## 5. Calculations

$$A2 - A1 = \square A_{\text{sample/standard}}$$

Consider the dilutions

1<sup>st</sup> dilution: 80  $\mu$ L homogenate plus 9  $\mu$ L perchloric acid makes a dilution of 1,1x.

2<sup>nd</sup> Dilution: 50  $\mu$ L sample plus hydrolysis reagents makes a dilution of 12x.

## 7.5 Utviklingsmatrise sult

Utviklingsmatrise for behandlingsgruppen sult. Statister representerer fisk som gikk gjennom hele forsøket uten å bli tatt prøve av. Deretter følger de fem samplingene. Individuer ved hver sampling er fulgt tilbake i tid til starten av forsøket. Første rad i hver gruppe viser vekt (gram), andre rad lengde (cm), tredje kondisjonsfaktor, og fjerde TGC for foregående periode.  $N \neq 10$  for enkelte grupper pga. at uttatt fisk hadde mistet individmerket. Presenterte verdier er snitt  $\pm$  standardavvik. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom datoer for den aktuelle parameteren.

	n	25. mars	15. april	6. mai	27. mai	17. juni
<b>Statister</b>	126	$152^a \pm 26$	$147^b \pm 26$	$145^c \pm 26$	$140^d \pm 25$	$131^e \pm 24$
		$25,7^a \pm 1,5$	$25,7^a \pm 1,5$	$25,9^b \pm 1,5$	$26,0^c \pm 1,5$	$25,9^b \pm 1,5$
		$0,88^a \pm 0,04$	$0,85^b \pm 0,04$	$0,83^c \pm 0,04$	$0,78^d \pm 0,03$	$0,75^e \pm 0,04$
			$-0,54^a \pm 0,31$	$-0,19^b \pm 0,35$	$-0,65^a \pm 0,39$	$-1,05^c \pm 0,54$
<b>Sampling 17. juni</b>	9	$155 \pm 28$	$152 \pm 28$	$149 \pm 27$	$144 \pm 26$	$136 \pm 24$
		$25,9 \pm 1,8$	$26,0 \pm 1,9$	$26,1 \pm 1,5$	$26,2 \pm 1,7$	$26,2 \pm 1,7$
		$0,88 \pm 0,02$	$0,85 \pm 0,05$	$0,83 \pm 0,04$	$0,80 \pm 0,02$	$0,75 \pm 0,04$
			$-0,43 \pm 0,20$	$-0,29 \pm 0,21$	$-0,55 \pm 0,17$	$-0,97 \pm 0,52$
<b>Sampling 27. mai</b>	10	$144 \pm 24$	$141 \pm 24$	$140 \pm 22$	$135 \pm 22$	
		$25,3 \pm 1,2$	$25,3 \pm 1,2$	$25,4 \pm 1,2$	$25,6 \pm 1,3$	
		$0,89 \pm 0,04$	$0,86 \pm 0,06$	$0,84 \pm 0,04$	$0,80 \pm 0,03$	
			$-0,42 \pm 0,36$	$-0,13 \pm 0,37$	$-0,58 \pm 0,27$	
<b>Sampling 6. mai</b>	8	$154 \pm 16$	$149 \pm 16$	$148 \pm 16$		
		$25,9 \pm 1,0$	$25,9 \pm 1,0$	$26,0 \pm 1,0$		
		$0,88 \pm 0,05$	$0,86 \pm 0,04$	$0,85 \pm 0,04$		
			$-0,52 \pm 0,20$	$-0,09 \pm 0,31$		
<b>Sampling 15. april</b>	10	$148 \pm 32$	$144 \pm 32$			
		$25,5 \pm 2,1$	$25,5 \pm 2,1$			
		$0,88 \pm 0,05$	$0,86 \pm 0,04$			
			$-0,49 \pm 0,19$			
<b>Sampling 25. mars</b>	8	$146 \pm 41$				
		$25,2 \pm 2,6$				
		$0,89 \pm 0,05$				

## 7.6 Utviklingsmatrise fôr

Utviklingsmatrise for behandlingsgruppen fôr. Behandlingsgruppa er delt inn i fem undergrupper som representerer hvilket tidsrom individene starter å øke i vekt. Individuer i gruppe 1 økte i vekt gjennom hele forsøket, individer i gruppe 5 tapte vekt hele forsøket. Statister representerer fisk i undergruppa som gikk gjennom hele forsøket uten å bli tatt prøve av. Deretter følger de fem samplingene. Første rad i hver gruppe viser vekt (gram), andre rad lengde (cm), tredje kondisjonsfaktor, og fjerde TGC for foregående periode. Individuer ved hvert uttak er fulgt tilbake i tid til starten av forsøket. N er til sammen  $\neq 10$  for enkelte samplinger pga. at uttatt fisk hadde mistet individmerket. Presenterte verdier er snitt  $\pm$  standardavvik. Forskjellige bokstaver indikerer signifikant forskjell mellom datoer for den aktuelle parameteren.

GRUPPE 1	N	25. mars	15. april	6. mai	27. mai	17. juni
<b>Statister</b>	34	167 <sup>a</sup> $\pm$ 36	200 <sup>b</sup> $\pm$ 45	248 <sup>c</sup> $\pm$ 55	291 <sup>d</sup> $\pm$ 67	384 <sup>e</sup> $\pm$ 89
		26,0 <sup>a</sup> $\pm$ 2,0	26,9 <sup>b</sup> $\pm$ 2,0	28,2 <sup>c</sup> $\pm$ 1,9	29,5 <sup>d</sup> $\pm$ 2,0	31,0 <sup>e</sup> $\pm$ 2,2
		0,93 <sup>a</sup> $\pm$ 0,06	1,02 <sup>b</sup> $\pm$ 0,08	1,09 <sup>c</sup> $\pm$ 0,09	1,12 <sup>d</sup> $\pm$ 0,11	1,27 <sup>e</sup> $\pm$ 0,09
			3,29 <sup>a</sup> $\pm$ 1,19	4,07 <sup>a</sup> $\pm$ 1,96	3,42 <sup>a</sup> $\pm$ 1,45	6,19 <sup>b</sup> $\pm$ 0,99
<b>Sampling 17. juni</b>	4	183 $\pm$ 46	227 $\pm$ 49	298 $\pm$ 55	335 $\pm$ 42	443 $\pm$ 66
		26,4 $\pm$ 2,2	27,5 $\pm$ 2,0	29,0 $\pm$ 1,8	30,9 $\pm$ 1,2	32,2 $\pm$ 1,6
		0,98 $\pm$ 0,06	1,09 $\pm$ 0,07	1,20 $\pm$ 0,07	1,13 $\pm$ 0,07	1,32 $\pm$ 0,06
			4,09 $\pm$ 0,68	5,51 $\pm$ 0,44	2,69 $\pm$ 1,62	6,36 $\pm$ 1,08
<b>Sampling 27. mai</b>	2	171 $\pm$ 20	200 $\pm$ 21	244 $\pm$ 33	285 $\pm$ 19	
		26,5 $\pm$ 0,4	27,1 $\pm$ 0,3	29,0 $\pm$ 0,7	30,3 $\pm$ 0,8	
		0,92 $\pm$ 0,06	1,00 $\pm$ 0,07	1,00 $\pm$ 0,06	1,03 $\pm$ 0,01	
			2,79 $\pm$ 0,13	3,84 $\pm$ 0,74	3,21 $\pm$ 1,30	
<b>Sampling 6. mai</b>	5	146 $\pm$ 44	170 $\pm$ 53	226 $\pm$ 70		
		25,1 $\pm$ 1,7	25,6 $\pm$ 1,8	26,4 $\pm$ 2,2		
		0,91 $\pm$ 0,14	0,99 $\pm$ 0,16	1,13 $\pm$ 0,08		
			2,56 $\pm$ 0,69	5,18 $\pm$ 0,68		
<b>Sampling 15. april</b>	3	152 $\pm$ 37	176 $\pm$ 45			
		26,1 $\pm$ 1,9	26,4 $\pm$ 2,0			
		0,84 $\pm$ 0,03	0,94 $\pm$ 0,04			
			2,51 $\pm$ 0,60			
<b>Sampling 25. mars</b>	10	148 $\pm$ 38				
		25,4 $\pm$ 2,3				
		0,89 $\pm$ 0,01				
<b>GRUPPE 2</b>	<b>N</b>	<b>25. mars</b>	<b>15. april</b>	<b>6. mai</b>	<b>27. mai</b>	<b>17. juni</b>
<b>Statister</b>	<b>9</b>	156 <sup>a</sup> $\pm$ 32	151 <sup>a</sup> $\pm$ 37	179 <sup>a</sup> $\pm$ 42	221 <sup>b</sup> $\pm$ 64	305 <sup>c</sup> $\pm$ 82

		$26,1^a \pm 1,2$	$25,9^a \pm 1,5$	$27,1^b \pm 1,0$	$27,9^b \pm 1,8$	$29,3^c \pm 1,8$
		$0,86^a \pm 0,07$	$0,83^a \pm 0,10$	$0,89^a \pm 0,14$	$0,95^a \pm 0,20$	$1,18^b \pm 0,14$
			$-1,44^a \pm 2,11$	$4,05^{abc} \pm 3,96$	$3,55^b \pm 1,97$	$6,55^c \pm 0,79$
Sampling 6. mai	1	142	141	164		
		26,9	26,8	26,5		
		0,86	0,86	0,88		
			-0,12	2,56		
<b>GRUPPE 3</b>	<b>N</b>	<b>25. mars</b>	<b>15. april</b>	<b>6. mai</b>	<b>27. mai</b>	<b>17. juni</b>
Statister	6	$145^a \pm 21$	$143^{ab} \pm 22$	$140^b \pm 20$	$173^c \pm 32$	$249^d \pm 47$
		$25,1^a \pm 1,1$	$25,3^a \pm 1,2$	$25,6^{ab} \pm 1,0$	$26,2^b \pm 1,5$	$27,9^c \pm 1,4$
		$0,92^a \pm 0,09$	$0,88^b \pm 0,07$	$0,83^b \pm 0,08$	$0,96^{ab} \pm 0,04$	$1,14^c \pm 0,06$
			$-0,30^a \pm 0,25$	$-0,26^a \pm 0,26$	$3,55^b \pm 1,07$	$6,79^c \pm 1,21$
Sampling 17. juni	2	$138 \pm 20$	$137 \pm 23$	$136 \pm 21$	$157 \pm 21$	$212 \pm 23$
		$24,2 \pm 0,1$	$24,5 \pm 0,4$	$24,9 \pm 0,1$	$25,2 \pm 0,8$	$26,9 \pm 0,5$
		$0,98 \pm 0,13$	$0,94 \pm 0,12$	$0,88 \pm 0,15$	$0,98 \pm 0,04$	$1,09 \pm 0,06$
			$-0,14 \pm 0,35$	$-0,17 \pm 0,24$	$2,47 \pm 0,15$	$5,38 \pm 0,23$
<b>GRUPPE 4</b>	<b>N</b>	<b>25. mars</b>	<b>15. april</b>	<b>6. mai</b>	<b>27. mai</b>	<b>17. juni</b>
Statister	33	$151^{ab} \pm 27$	$149^{ab} \pm 27$	$150^a \pm 33$	$144^b \pm 33$	$179^c \pm 49$
		$25,7^a \pm 1,6$	$25,8^{ab} \pm 1,6$	$26,1^{bc} \pm 1,7$	$26,2^c \pm 1,7$	$26,7^d \pm 1,6$
		$0,88^a \pm 0,04$	$0,85^b \pm 0,06$	$0,83^c \pm 0,06$	$0,78^d \pm 0,07$	$0,93^a \pm 0,10$
			$-0,29^{ab} \pm 0,87$	$-0,02^a \pm 0,99$	$-0,61^b \pm 0,77$	$3,65^c \pm 2,13$
Sampling 17. juni	1	145	145	140	132	178
		25,9	25,8	25,9	26,2	26,8
		0,83	0,84	0,81	0,73	0,92
			0,00	-0,58	-0,96	5,08
<b>GRUPPE 5</b>	<b>N</b>	<b>25. mars</b>	<b>15. april</b>	<b>6. mai</b>	<b>27. mai</b>	<b>17. juni</b>
Statister	38	$156^a \pm 25$	$154^b \pm 25$	$153^{bc} \pm 24$	$146^d \pm 24$	$141^e \pm 23$
		$26,0^a \pm 1,3$	$26,0^a \pm 1,3$	$26,5^b \pm 1,4$	$26,5^b \pm 1,3$	$26,4^b \pm 1,3$
		$0,88^a \pm 0,05$	$0,86^b \pm 0,04$	$0,82^c \pm 0,06$	$0,78^d \pm 0,04$	$0,76^e \pm 0,04$
			$-0,27^a \pm 0,33$	$-0,12^a \pm 0,53$	$-0,73^b \pm 0,42$	$-0,65^b \pm 0,45$
Sampling 17. juni	2	$170 \pm 8$	$167 \pm 11$	$165 \pm 15$	$157 \pm 8$	$154 \pm 8$
		$26,9 \pm 0,1$	$26,7 \pm 0,3$	$27,0 \pm 0,2$	$27,1 \pm 0,4$	$26,9 \pm 0,1$
		$0,88 \pm 0,04$	$0,87 \pm 0,03$	$0,84 \pm 0,06$	$0,79 \pm 0,01$	$0,79 \pm 0,03$
			$-0,37 \pm 0,23$	$-0,22 \pm 0,46$	$-0,79 \pm 0,65$	$-0,38 \pm 0,06$
Sampling 27. mai	7	$141 \pm 23$	$141 \pm 23$	$134 \pm 22$	$129 \pm 22$	
		$25,2 \pm 1,2$	$25,5 \pm 1,3$	$25,6 \pm 1,5$	$25,6 \pm 1,0$	
		$0,87 \pm 0,08$	$0,85 \pm 0,05$	$0,79 \pm 0,06$	$0,76 \pm 0,05$	
			$0,07 \pm 1,57$	$-0,88 \pm 1,49$	$-0,61 \pm 0,75$	

<b>Sampling 6. mai</b>	4	118 ± 29	116 ± 29	116 ± 29		
		23,9 ± 1,8	23,9 ± 1,8	24,1 ± 1,9		
		0,86 ± 0,05	0,84 ± 0,03	0,81 ± 0,03		
			-0,25 ± 0,43	0,00 ± 0,00		
<b>Sampling 15. april</b>	6	135 ± 38	133 ± 36			
		24,8 ± 2,2	24,9 ± 2,1			
		0,86 ± 0,03	0,85 ± 0,04			
			-0,15 ± 0,39			



