

Flekksteinbit er en lovende oppdrettsart som er blitt godt mottatt i markedet, og til tross for næringens unge alder har man oppnådd god kontroll med de biologiske og produksjonsmessige sidene ved steinbitoppdrett. Lav og uforutsigbar spermproduksjon hos hannfisken gjennom gytesesongen hindrer imidlertid en optimal yngelproduksjon. Den lave spermproduksjonen kan være forårsaket av stress som følge av ugunstige oppdrettsbetingelser (ernæringsmessig status, vannkvalitet, håndtering, osv.). Systematisk arbeid med å forbedre stamfiskholdet bør derfor være et prioritert forskningsområde i fremtiden.

#### Marianne Frantzen

marianne.frantzen@nfh.uit.no  
Norges Fiskerihøgskole, Universitetet i Tromsø

#### Helge Tveiten

helge.tveiten@fiskeriforskning.no  
Fiskeriforskning AS

Steinbit har vist seg å være en svært lovende oppdrettsart. Den første vellykkede strykingen og befruktningen av steinbitegg fant sted ved Norges fiskerihøgskole i 1993. I en næring som knapt har rukket å bli mer enn “fjortis”, har man i dag god kontroll med de biologiske og produksjonsmessige sidene ved steinbitoppdrett, sammenlignet med oppdrett av marine arter for øvrig. Tomma Marinfisk AS i Helgeland i Nordland (Figur 3.7.1) driver i dag kommersiell produksjon av flekksteinbityngel og har også et landbasert anlegg for produksjon av matfisk. Dette anlegget produserte i 2006 ca. 100 tonn flekksteinbit. Oppdrettsteinbiten er blitt veldig godt mottatt i markedet, spesielt innen restaurantnæringen i Norge og Sverige, og mye tyder på at den har et stort potensial som et høyt betalt nisjeprodukt. I tillegg til Tomma Marinfisk AS har det nyetablerte firmaet Senja Steinbit AS kjøpt opp den tidligere lokaliteten til Troms Steinbit AS på Senja i Troms. Firmaet er nå i gang med prosjekteringen av et landbasert matfiskanlegg for flekksteinbit ved denne lokaliteten, i samme størrelsesorden som anlegget til Tomma Marinfisk AS i Nordland.

#### Sædkvalitet hos steinbit i oppdrett

Selv om man i dag kan sies å ha god kontroll med de biologiske og produksjonsmessige sidene ved steinbitoppdrett, betyr det ikke at det ikke er rom og behov for å forbedre de ulike leddene i produksjonen. En “flaskehals” som fortsatt gjenstår når det gjelder yngelproduksjon av steinbit er lav spermproduksjon, med varierende og uforutsigbar kvalitet gjennom gyte-

sesongen. Også eggkvaliteten kan variere betydelig mellom ulike individer hunnfisk, og eggoverlevelsen er i enkelte tilfeller lav. Dette betyr at man er avhengig av en relativt stor stamfiskbeholdning, som igjen medfører en for lav utnyttelse av produksjonsarealet og medfølgende redusert produksjonskapasitet.

I naturen danner hann- og hunnfisken par, og man antar at steinbiten kopulerer og at det skjer en indre befruktning av eggene. Etter at hunnfisken gyter de befruktede eggene lager hun en eggball som hannfisken beskytter frem til klekkingen finner sted. I oppdrett viser hannfisk av steinbit ingen interesse for hunnfisk, og de prøver ikke å pare seg med hunnene eller befruktede eggene deres. Hunnfisken gyter nokså umiddelbart etter at eggene er modnet, uavhengig av om de er befruktet eller ikke (Figur 3.7.2). Hunnfisken må derfor passes på gjennom sluttmodningen, og hentes ut av karet for stryking før den spontane gytingen finner sted. Eggene strykes og befruktes med sperm som strykes fra hannfisken. Den lave og uforutsigbare spermkvaliteten medfører ofte at en rekke hanner må strykes for å ha nok sperm til å befrukte eggene, og de “gode” hannene må ofte strykes gjentatte ganger gjennom sesongen. Dette medfører et stort handteringsstress for disse fiskene samt en risiko for at hannene går “tørre” før sesongen er over.

#### Effekter av stress på kjønnsmodningen

Reproduksjon er en følsom fysiologisk prosess som kan være forstyrret selv om man ikke ser noen effekter på andre prosesser som for eksempel overlevelse og vekst. Hos en rekke arter i oppdrett har det vært rapportert om tilbakedannede gonader og ufullstendig kjønnsmodning hos fisk som vokser godt og som tilsynelatende ser ut til å ha det bra. Hos fisk som hos pattedyr kan stress være årsaken til mangelfull reproduksjonsutvikling, noe som ofte er reflektert i lave plasmanivåer av kjønnshormoner som er nødvendige for utviklingen av gonadene. Hos hannfisk er det påvist at 11-ketotestosteron (11-KT) er det viktigste androgenet i reguleringen av spermatogenesisen (modningen av sperm-



Foto: Lars Olav Sparboe

Figur 3.7.1

Tomma Marinfisk AS.  
Tomma Marinfisk AS.

Foto: Bjørn-Steinar Sæther

**Figur 3.7.2**

Flekkesteinbit med ubefruktet eggball.  
Spotted wolffish with unfertilised eggs.

**Forsøksoppsett og metodikk**

For å undersøke om den lave spermproduksjonen hos flekkesteinbit i oppdrett kan være knyttet til fysiologisk stress som følge av et ugunstig oppdrettsmiljø, gjennomførte vi et forsøk der vi studerte effekten av kortisol og 11-KT på spermproduksjonen hos hannfiskene. Vi hadde 32 hannfisk fordelt på fire kar. Fisken i hvert av karene ble ukentlig behandlet med enten kortisol (20 mg/kg fisk), 11-KT (2 mg/kg fisk), en kombinasjon av begge hormonene eller gitt placebobehandling (kontroll) i fire uker gjennom gyteperioden. Det ble tatt blodprøver av fisken ved hvert behandlingstidspunkt. Etter endt behandling ble en avklipt plastpipette sugd fast på genitalpapillen til fisken, og fisken ble deretter strøket tom for melke (Figur 3.7.3). Pipetten gjør det enkelt å få samlet opp all melken samt at den forhindrer at melken blir forurenset med saltvann og avføring fra fisken.

Vi registrerte melkevolumet og målte prosentvis andel spermceller i melken (spermatokritt). Spermcellene ble filmet med et videokamera som var montert på et mikroskop, og cellenes bevegelighet ble videre analysert ved hjelp av Computer Assisted Sperm Analysis (CASA). En indeks over befruktningspotensial (BPI) ble deretter beregnet ved å multiplisere volumet melke, spermatokritt og andelen bevegelige spermceller. Seminalvæsken (dvs. væsken som er igjen etter at man har fjernet spermcellene fra melken) ble undersøkt med hensyn til pH og ionesammensetning ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  og  $\text{K}^+$ ), og konsentrasjonen av kortisol og 11-KT i plasma ble analysert ved hjelp av Radio Immuno Assay (RIA).

Foto: Kjell Ingebrigtsen

**Figur 3.7.3**

Stryking av hannfisk. Melken samles opp i plastpipette for å unngå forurensing med avføring og sjøvann fra fisken.

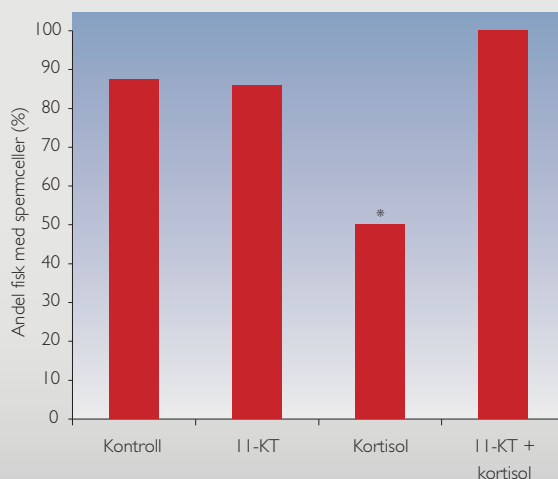
Stripping of male spotted wolffish. The milt is collected in a plastic pipette to avoid contamination from faeces and seawater.

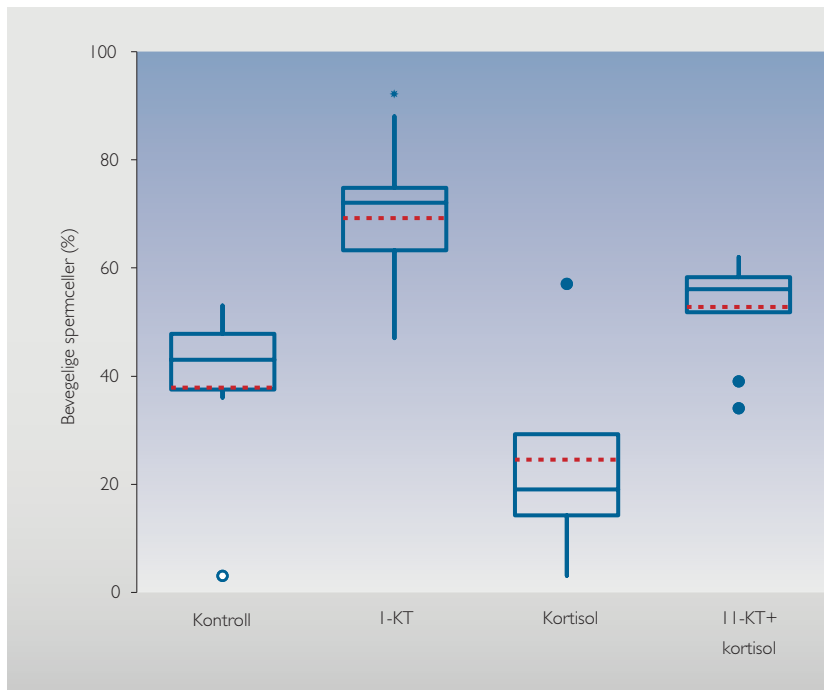
cellene), og flekkesteinbit i oppdrett har lave nivåer av dette hormonet gjennom gyteperioden sammenlignet med andre arter. Faktorer som kan virke stressende på fisk i oppdrett kan være ugunstige forhold knyttet til lys, temperatur, vannkvalitet, ernæringsmessig status osv., håndtering eller dannelsen av sosiale hierarkier. Hos alle virveldyr, inkludert fisk, er kortisol antatt å være det hormonet som utøver effekten av stress på reproduksjonsutviklingen.

**Figur 3.7.4**

Prosentvis andel av flekkesteinbithanner som produserte sperm i de ulike behandlingsgruppene.

Percentage of male wolffish producing sperm in the different treatment groups.





**Figur 3.7.5**

Boksploott som viser prosentvis andel bevegelige spermceller i de ulike behandlingsgruppene. Boksen representerer 50% av verdiene, mens de vertikale linjene angir maksimum og minimum andel bevegelige celler. Stiplet og heltrukket horisontal linje inni boksen representerer henholdsvis gjennomsnittlig og median andel bevegelige spermceller. Sirkler indikerer individuelle uteliggere. *Box plot showing percentage motile sperm cells in the different treatment groups. The box represents 50% of the values, and whiskers indicate minimum and maximum motility. Broken and solid horizontal lines within the box indicate average and median motility, respectively. Circles indicate individual outliers.*

### Effekter av 11-KT og kortisol på spermproduksjonen hos flekksteinbit

Behandlingen med kortisol og 11-KT ga ønskede forhøyede plasmaverdier av hormonene gjennom forsøksperioden, mens fisk som ikke hadde blitt behandlet med de respektive hormonene hadde lave plasmavåer av disse. Behandling med kortisol ga en signifikant reduksjon i andelen fisk som produserte spermceller gjennom forsøksperioden (Figur 3.7.4) mens behandling med 11-KT ga en signifikant økning i andelen bevegelige spermceller i melken (Figur 3.7.5). Videre viste 11-KT-behandlet fisk en tendens til økt BPI. Vi så også en tendens til at kortisolbehandling ga redusert pH samt en lavere konsentrasjon av  $\text{Na}^+$  og en høyere konsentrasjon av  $\text{Mg}^{2+}$  og  $\text{Ca}^{2+}$  i seminalvæsken enn hos både kontrollfisk og fisken som var behandlet med bare 11-KT. Videre fant vi i seminal-

væsken fra forsøksfisk en sterk negativ sammenheng mellom konsentrasjonen av  $\text{Na}^+$  og  $\text{Mg}^{2+}$  ( $R^2 = 0.91$ ) og mellom konsentrasjonen av  $\text{Na}^+$  og  $\text{Ca}^{2+}$  ( $R^2 = 0.86$ ).

Resultatene fra forsøket viser at stress, uttrykt gjennom kortisolnivå og lave nivåer av 11-KT, kan være årsaken til lav spermproduksjon og uforutsigbar spermkvalitet hos flekksteinbit i oppdrett. Dette viser potensialet for å oppnå en mer rasjonell og lønnsom yngelproduksjon av steinbit gjennom å forbedre oppdrettsbetingelsene. Det er derfor nødvendig med fortsatt forskningsinnsats innen dette feltet, der man systematisk studerer viktigheten av de ulike faktorene som kan være årsaken til forstyrrelser i reproduksjonsutviklingen, som vannkvalitet, lys og ernæringsmessige forhold. I dag er for eksempel kunnskapen om hvilke næringsstoffer som må

til for å sikre en god gametkvalitet svært begrenset, og stamfiskene føres med vanlig tilvekstfôr.

Videre indikerer resultatene at pH og ione-sammensetning i seminalvæsken er viktige faktorer i reguleringen av spermkvaliteten til flekksteinbiten. Ved en bedre forståelse av hvordan disse faktorene reguleres gjennom sluttmodningen og hvilken betydning dette har for spermkvaliteten, kan man for eksempel komponere en kunstig seminalvæske som spermen kan oppbevares i for å øke dens befruktningspotensial.

### Sperm quality in male spotted wolffish

One constraint to the development of spotted wolffish aquaculture today is low sperm production and unpredictable sperm quality during the breeding period. This results in maintenance of a large male brood stock and an ineffective utilisation of hatchery facilities and reduced production capacity. Plasma levels of androgens (11-ketotestosterone; 11-KT), responsible for testicular development, are low in spotted wolffish compared to other fish species. The causes for low plasma androgen levels and sperm production in male wolffish is not clear, but physiological stress related to suboptimal farming conditions may be a possible candidate.

Possible effects of stress on reproductive development are assumed to be mediated by the stress hormone cortisol.

To investigate if stress related to suboptimal rearing conditions may cause a low and unpredictable sperm production in spotted wolffish, the effects of cortisol and 11-KT on sperm production (sperm volume, spermatoctrit, sperm motility, pH and ionic composition of seminal fluid) were studied. Male spotted wolffish were treated with cortisol, 11-KT, or a combination of both steroids, and compared with a sham treated control group. Cortisol treatment significantly reduced the proportion of males producing sperm whereas 11-KT significantly increased the proportion of

motile sperm cells. There was a strong negative correlation between the concentration of  $\text{Na}^+$  and  $\text{Mg}^{2+}$  ( $R^2 = 0.91$ ), and between  $\text{Na}^+$  and  $\text{Ca}^{2+}$  ( $R^2 = 0.86$ ), in the seminal fluid. Furthermore, there was a tendency of higher concentrations of  $\text{Mg}^{2+}$  and  $\text{Ca}^{2+}$ , and a lower concentration of  $\text{Na}^+$ , in the groups treated with cortisol (alone or in combination with 11-KT) than in the control group and the group treated with 11-KT. The results from the study may indicate that stress and low levels of sex steroids are responsible of low and unpredictable sperm production in farmed spotted wolffish. Therefore further research is needed regarding rearing conditions of spotted wolffish brood stock.