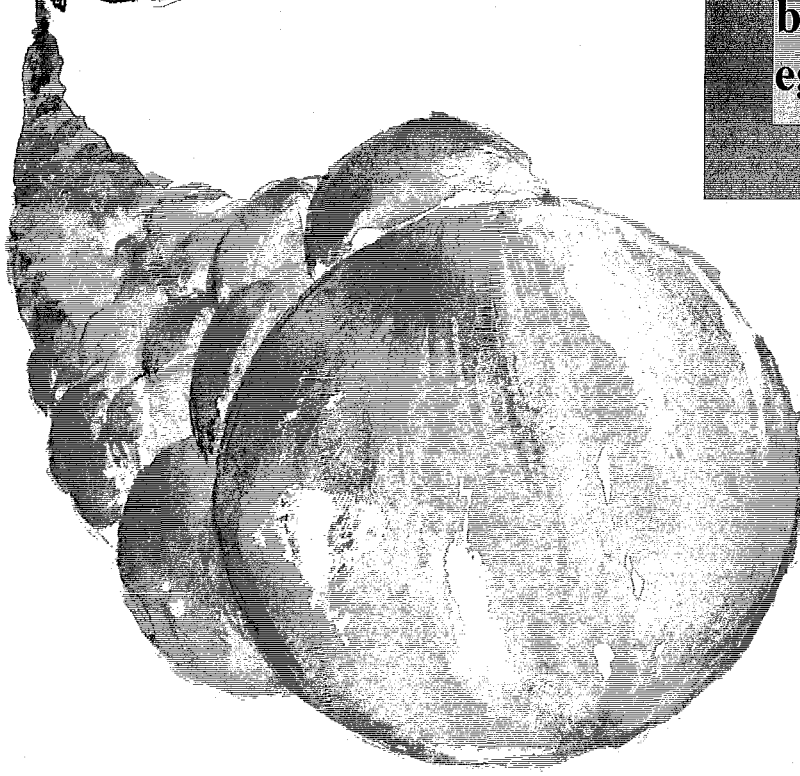


97j



Fiskeridirektoratets  
Bibliotek

Biokjemiske- og  
fysiologiske  
parametre i  
kveite-egg  
(*Hippoglossus  
hippoglossus* L.)  
- og deres  
betydning for  
eggkvalitet.



**Hovedfagsoppgave til Cand. scient. graden i akvakultur**

av

**Guri Lerøy Grung**

Institutt for fiskeri-og marinbiologi  
Universitetet i Bergen

**Januar 1992**

# Innholdsfortegnelse

Fiskeridirektoratets  
Bibliotek

Forord og takk .....	i
Sammendrag .....	ii
Kapittel 1. Innledning .....	1
Kapittel 2. Materiale og metoder .....	7
2.1. Stamfisk .....	7
2.2. Oppfølging av fiskenes ovulasjonsintervall .....	9
2.3. Eggmaterialet .....	9
2.4. Hygiene .....	11
2.5. Prøvetaking .....	11
2.5.1. Tidspunkt og framgangsmåte ved prøvetaking .....	11
2.5.2. Befruktningsprosent og overlevelse .....	12
2.5.3. Osmolalitet .....	13
2.5.4. Frie aminosyrer .....	13
2.5.5. Fettsyrer i totalt lipid. ....	15
2.5.6. Eggstørrelse .....	17
2.5.7. Tekst- og tallbehandling .....	17
Kapittel 3. Resultater .....	18
3.1. Ovulasjonsintervall .....	18
3.2. Befruktning og overlevelse .....	19
3.3. Eggproduksjon .....	21
3.4. Osmolalitet .....	23
3.5. Frie aminosyrer .....	25
3.6. Fettsyrer i totalt lipid .....	29
3.7. Eggstørrelse .....	34
Kapittel 4. Diskusjon .....	40
4.1. Diskusjon av materiale og metoder .....	40
4.1.1. Forsøksoppsettet .....	40
4.1.2. Stamfisk .....	40
4.1.3. Stamfiskmiljø .....	41
4.1.4. Stress .....	42
4.1.5. Prøvetaking .....	42
4.1.6. Befruktning .....	44
4.1.7. Overlevelse .....	44
4.1.8. Effekter av lagring .....	45
4.1.9. Metoder .....	45

4.2. Diskusjon av resultater. ....	47
4.2.1. Ovulasjonsintervall og eggproduksjon .....	47
4.2.2. Overlevelse .....	48
4.2.3. Osmolalitet .....	48
4.2.4. Frie aminosyrer .....	49
4.2.5. Fettsyrer i totalt lipid .....	51
4.2.6. Eggstørrelse .....	52
4.2.7. Konklusjon .....	54
Referanseliste .....	55

## Vedlegg

Vedlegg A. Metoder, Instrumentbetingelser, reagenser og kjemikalier .....	
A.1 Frie aminosyrer .....	66
Metode for å ekstrahere frie aminosyrer fra kveite-egg. ....	66
Instrumentbetingelser .....	66
Tidsprogram for inntak av to løsninger, A og B til HPLC. ....	67
Reagenser .....	68
A.2 Fettsyrer i totalt lipid .....	69
Metode for opparbeiding av fettsyrer i totalt lipid .....	69
Instrumentbetingelser. ....	71
Kjemikalier .....	71
Metode for utregning av absolutt mengde fettsyrer i totalt lipid .....	72
Vedlegg B. Tabeller .....	
Tabell B1. Gjennomsnittsinhold av frie aminosyrer i egg fra fire kveiter i gyteperioden .....	73
Tabell B2. Innhold av frie aminosyrer i tre enkeltegg fra ulike eggporsjoner til fire kveiter i gyteperioden .....	74
Tabell B3. Gjennomsnittsinhold av fettsyrer i egg fra fire kveiter i gyteperioden .....	78
Tabell B4. Innhold av fettsyrer i eggporsjoner fra fire kveiter i gyteperioden. To parallelle målinger er vist. ....	79
Viabilitetsdata for egg og forsøksfisk .....	82
Vedlegg C. Figurer. ....	
Kumulativ eggdødelighet fra stryking til dag åtte i eggporsjoner fra de fire fiskene .....	83
Effekt av ekstraheringstid i 1N HNO <sub>3</sub> på konsentrasjon av frie aminosyrer i egg .....	84

## Forord

Til Snorre Tilseth  
Takk for kritiske kommentarer  
og god hjelp i forb. med oppgaven  
Med beste hilsen GUR

Dette arbeidet er en hovedfagsoppgave til cand. scient.-graden i akvakultur, ved Institutt for Fiskeri- og Marinbiologi, Universitetet i Bergen.

Materialet ble samlet inn ved Austevoll Havbruksstasjon våren 1989, og hovedsaklig opparbeidet og analysert der. Fettsyrer i totalt lipid ble opparbeidet og analysert ved Kjemisk laboratorium, Senter for Miljø, Havforskningsinstituttet i Bergen.

Professor I, Dag Møller og professor II, Snorre Tilseth, var mine formelle veiledere. Dr.scient Anders Mangor-Jensen, Havbruksstasjonen Austevoll, var eksternt veileder, mens cand. scient. Geir Lasse Taranger har vært min faglige veileder.

Opgaven inngikk i prosjektet "*Domestication of Atlantic halibut*" ved Austevoll Havbruksstasjon. Prosjektet var finansiert av BP Norge A/S. Deler av oppgaven (oppfølging av fiskenes ovulasjonsintervall) ble utført i tilknytning til Ny Fisk prosjektet: "*Kontroll av reproduksjon og eggkvalitet i marin fisk*", ledet av Dr. philos Birgitta Norberg.

## Takk

Helt på tampen vil jeg takke studiekamerater og "kolleger" på Institutt for Fiskeri- og Marinbiologi samt Austevoll Havbruksstasjon for et godt sosialt miljø i studietiden, samt familie og "utenomfaglige" venner for fine stunder. Ingen nevnt og ingen glemt. Stor takk til dere alle!

Det er likevel noen jeg vil trekke fram i lyset. Først og fremst Per Bratland ved Havforskningsinstituttet i Bergen, som med sin entusiasme og ivrige diskusjon over en skive islandsbrød med torsk, kanskje var den som fikk snøballen til å rulle?!

Takk også til alle ved Austevoll Havbruksstasjon, spesielt Per Anders Jensen for tålmodig hjelp i mulige og umulige data-situasjoner, kveite-strykejengen og Svanhild Lohne Gokstad for godt samarbeid med aminosyreanalyser.

Jeg vil rette en takk til mine veiledere, Anders Mangor-Jensen, Dag Møller, Snorre Tilseth og spesielt Geir Lasse Taranger og for gode råd, og kritisk gjennomlesning av oppgaven.

Svein Wilhelmsen og Jarle Klungsøyr takkes for gode råd og hjelp under fettsyreanalyser på Senter for Miljø, Havforskningsinstituttet.

Otto Grahl-Nielsen (Kjemisk institutt, Universitetet i Bergen) og Trond Hanesand (Norsk Hydro) takkes for innføring i multivariatanalyser.

Hans Jørgen Fyhn og Maria Sula Evjen, Zoologisk laboratorium, Universitetet i Bergen og Robert Farestveit, Kjemisk Institutt, Universitetet i Trondheim, takkes for nyttige råd og diskusjoner i forbindelse med aminosyreanalyser.

Jeg vil også takke dere som har bidratt til inspirerende diskusjoner, og som kritisk har lest gjennom ulike deler og utgaver av hovedfagsoppgaven: Ann-Lisbeth Agnalt, Øivind Bergh, Arild Folkvord, Jens Christian Holm, Ivar Holmefjord, Ingvar Huse, Olav Sigurd Kjesbu, Jarle Klungsøyr, Birgitta Norberg, Gunnar Nævdahl, Dag Oscar Oppen-Berntsen, Karin Anna Pittman og Vibeke Valkner.

Og til Tore Håkon Riple for sin støtte og mange gode, nøkterne råd...

Guri Lerøy Grung

Guri Lerøy Grung

## Sammendrag

Forsøket beskriver ubefruktede egg fra ulike eggporsjoner til fire fisker gjennom en gytesesong. Eggenes osmolalitet, innhold av frie aminosyrer og fettsyrer samt eggstørrelse er undersøkt. Disse parametrene er korrelert med overlevelse til dag åtte etter stryking.

Fiskenes ovulasjonsintervall var i gjennomsnitt mellom 73 og 80 timer. Ovulasjonsintervallet ble mer uregelmessig mot slutten av gyteperioden til fisk som gytte flest eggporsjoner.

Befruktingsprosent og overlevelse varierte gjennom fiskenes gyteperiode. Det var samsvar mellom befruktingsprosent og prosent overlevelse etter befruktning.

Osmolaliteten i egg var relativt stabil gjennom gytesesongen. Det var ikke forskjell i eggosmolalitet mellom de fire fiskene. Eggosmolalitet var tilnærmet lik osmolalitet i morfiskens blodplasma.

Innhold av frie aminosyrer varierer innen eggporsjoner. Det ble funnet forskjellig innhold av frie aminosyrer mellom fisk. Det ble funnet sammenheng mellom innhold av frie aminosyrer og osmolalitet.

Innhold av fettsyrer varierer mellom eggporsjoner, og var forskjellig mellom fisk.

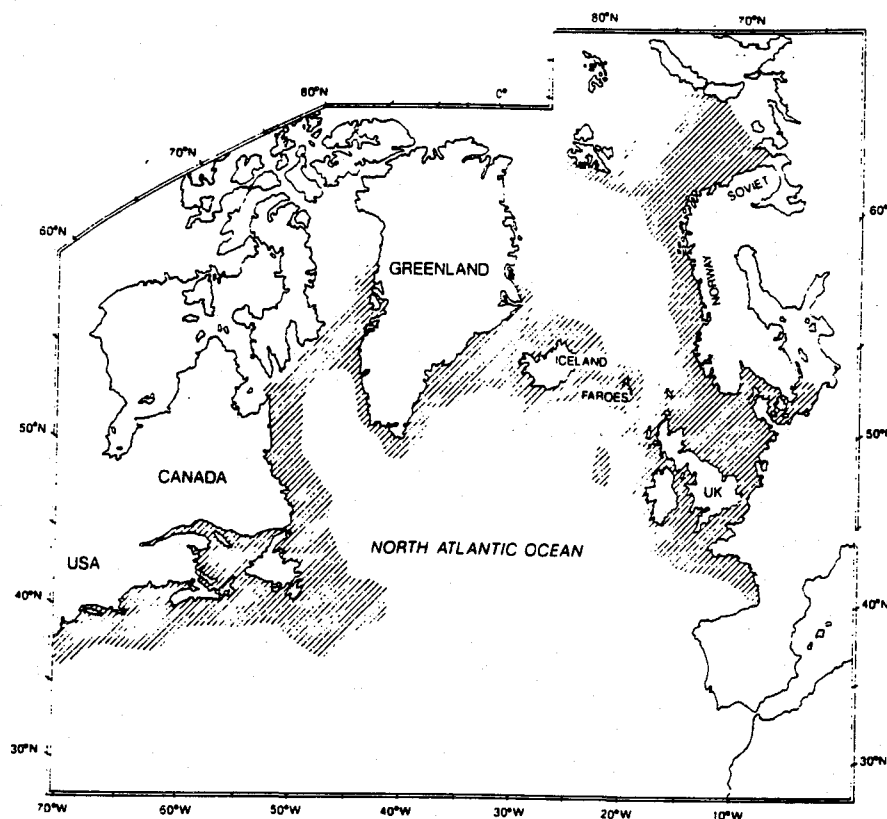
Eggstørrelsen varierte innen eggporsjoner, og mellom fisk. Det var sammenheng mellom eggdiameter og fiskestørrelse.

Det var ikke sammenheng mellom eggenes osmolalitet, innhold av frie aminosyrer og -fettsyrer, og overlevelse. Eggdiameter viste en svak, men signifikant korrelasjon med overlevelse.

## Kapittel 1

### Innledning

Kveiten (*Hippoglossus hippoglossus* L.) er den største beinfisken som finnes naturlig i nordlige farvann. Voksne individer av kveite lever på 300 - 2000 m dyp (Pethon 1985) langs kysten av kontinentene i Nord-Atlanteren (Fig. 1.1). Kveite kan foreta lange nærings- og gytevandringar (Godø & Haug 1988). Viktigste næringskilde for store kveiter er fisk, men de spiser også bunndyr (Pethon 1985). Merkeforøk viser at kveite vender tilbake til det samme gyteområdet år etter år (Godø & Haug 1988). Om høsten samler de seg på kystbanker og i dype fjorder (Vedel-Tåning 1936; Devold 1938; 1939). Her gyter de på 300 - 700 m dyp ved 5 - 7 °C og 34,5 - 35 ppt. saltholdighet i perioden fra desember til april (Devold 1938; Kjørsvik *et al.* 1987). Kveiten er posjonsgyter og kan produsere 0,5 - 7 millioner egg i en gyteperiode, avhengig av kroppsstørrelse (Haug & Gulliksen 1988a). Eggene er ikke pigmentert og inneholder ikke oljedråpe, slik som f.eks. egg fra piggvar (*Scophthalmus maximus*). De er ca. 3 mm i diameter og ett av de største pelagiske egg som er funnet (Haug 1990). Egg fra blåkveite (*Reinhardtius hippoglossoides*) er imidlertid større, ca. 4 - 4,5 mm i diameter (Pethon 1985).



Figur 1.1. Oversiktskart som viser utbredelse av kveite i Nord-Atlanteren (Haug 1990).

De første laboratorieforsøk med kveite-egg ble utført av Rollesfsen (1934). Midt på 1970-tallet bidro Solemdal *et al.* (1974) ytterligere med informasjon om kveitelarvens biologi. Fra midten av 1980-tallet har forskningsinnsatsen på kveite blitt intensivert (Se Haug 1988). Kveite regnes idag for å være en lovende art i oppdrett.

Kveiter i ulike aldersgrupper er fanget inn fra naturen, og benyttet til å etablere stamfiskbestander ved flere lokaliteter. Kveite gyter naturlig i oppdrett dersom forholdene blir lagt tilrette (H. Botnen, Institutt for fiskeri- og marinbiologi, Universitetet i Bergen; I. Holmefjord, Akvaforsk, Sundalsøra; begge pers. medd.). Fasiliteter som stimulerer kveiten til å gyte naturlig er imidlertid ressurs- og plasskrevende, og finnes på få steder. Det er derfor i dag mest vanlig å stryke kveitene for å få egg. Tilgangen på egg er god, men overlevelsen på egg- og larvestadiet varierer mellom eggposjoner både fra samme fisk og mellom stamfisk (Holmefjord pers.medd.; Norberg *et al.* 1991). Den varierende overlevelsen tilskrives eggens kvalitet, og antas å være bestemt av maternale effekter. De maternale effekter forventes å gi utslag på målbare parametre i eggene. Ved å undersøke slike parametre i nystrøkte egg, kan de derved brukes som et redskap til å forutsi eggens kvalitet. Eggkvalitet defineres her som *eggens evne til å bli befruktet, overleve eggfasen og utvikle levedyktige yngel*. Det optimale mål på eggkvalitet vil være når kveitelarven har gjennomgått viktige faser i utviklingen, som startføring og metamorfose. Fram mot disse trinnene i kveitelarvens utvikling, vil imidlertid ytre faktorer bli mer framtrædende. De maternale effekter på eggkvalitet vil dermed sannsynligvis bli overskygget av miljøfaktorer. Det er derfor ønskelig å bruke et tidligere utviklingsstadium som mål på eggkvalitet.

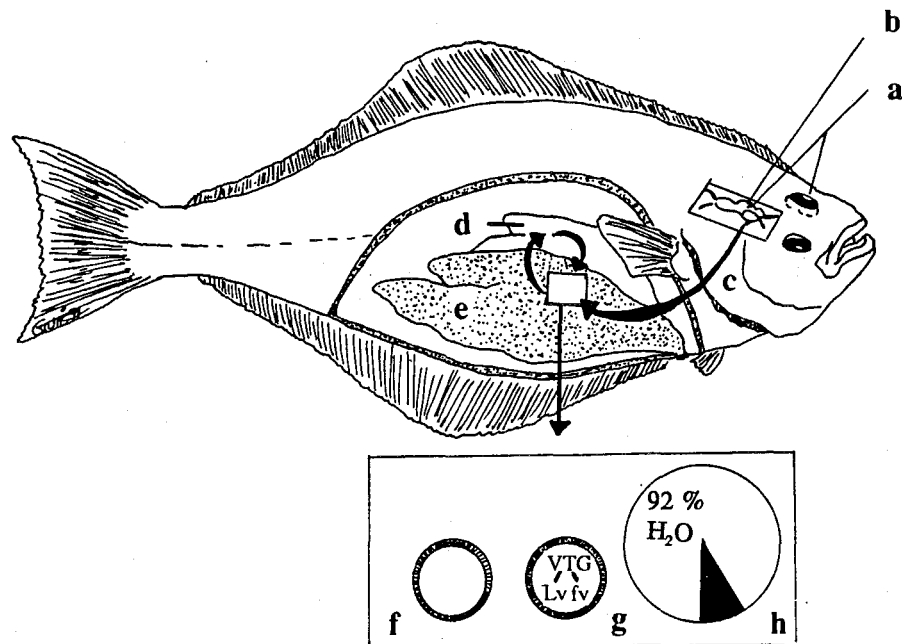
Eggenes befruktningsprosent er brukt for å beskrive eggkvalitet for andre arter (Se Kjørsvik *et al.* 1990), men gir liten informasjon om eggens evne til å overleve på senere stadier. I eggfasen hos kveite er det høyest dødelighet de første dagene etter befruktning (Holmefjord & Bolla 1988; Opstad 1990). Etter at plommesekken er omvokst (endte epiboli) ved dag 8 (7,0 +/- 0,5 C°), og fram til klekking er dødeligheten tilnærmet lik null (Holmefjord & Bolla 1988; Opstad 1990). Overlevelse til dag åtte dekker en kritisk periode av eggutviklingen, og kan derfor være et gunstig objektivt mål på eggkvalitet.

Eggenes overlevelsessevne kan trolig påvirkes i tidlige stadier i eggutviklingen. Forut for gyting gjennomgår eggemner (oocytter) viktige fysiologiske prosesser i ovariet; oppbygging av oocytter, sluttmodning, hydrering og ovulasjon (Wallace 1985). I porsjonsgytende teleoster vokser oocytterne fram til et visst nivå før gytelsesongen starter (Kjesbu 1988; Norberg & Kjesbu & Norberg 1991). Deretter vil så oocytter porsjonsvis gjennomgå en videre inkorporering av ulike komponenter, sluttmodning, hydrering og ovulasjon, inntil fiskens gyteperiode er slutt. Det er av betydning for eggets videre utvikling etter gyting at disse prosessene fullføres på en tilfredstillende måte.

Oppbygging av premature oocytter i kveite-gonadene starter tidlig på høsten med inkorporering av vitellogeninen (VTG) gjennom vitellogenese, og eggeskallsproteiner (ZrP), henholdsvis i og rundt oocytene. Dette avspeiles ved at plasmanivået av VTG (Methven *et al.* i trykk) og ZrP (Oppen-Berntsen *et al.* 1990) øker. VTG er et lipoglycofosfo-protein, og en forløper til hoveddelen av eggets plommemasse. Både VTG og ZrP dannes i leveren til beinfisk under stimulering av estradiol-17 $\beta$ , og fraktes via blodbanene til ovariet (Wallace 1978; Oppen-Berntsen *et al.* 1990), (Se fig. 1.2.). Nivået av estradiol-17 $\beta$  og VTG i plasma øker fram mot kveitenes gytesesong (Methven *et al.* i trykk) og reflekterer ovarievekst i månedene før gytesesongen starter (Norberg & Kjesbu 1991). I oocytene spaltes VTG til plomme proteiner sammensatt av aminosyrer. I tillegg er fettsyrer, karbohydrater, organiske- og uorganiske ioner assosiert til proteinene. Disse komponentene utgjør embryos hovedenergikilde fram til startføring (Se Wallace 1985). Startføring skjer mellom 150 døgngrader ( $^{\circ}$ D) (Skiftesvik *et al.* upublis.) og 230  $^{\circ}$ D (Harboe *et al.* 1990).

Når alle nødvendige komponenter er inkorporert, sluttmodnes teleost-oocytter under påvirkning av et modnings-induserende steroid, 17 $\alpha$ , 20 $\beta$ -Dihydroxy-4-pregnen-3-one (Nagahama 1987). I denne prosessen fortsetter meiose, som ble stanset under vitellogenese, og den germinale vesikkel brytes ned (Watanabe & Kuo 1986). I marine fiskearter som gyter pelagiske egg, skjer det samtidig et massivt opptak av vann (hydratisering) (Fulton 1898; Craik & Harvey 1984). Vannopptaket er nødvendig for at eggene skal få oppdrift i vannmassene etter gyting. I torsk (*Gadus morhua*) og flyndre (*Pleuronectes platessa*) øker oocytens innhold av vann opptil fem ganger (Craik & Harvey 1987). Det massive vannopptaket skyldes en osmotisk gradient mellom oocytten og plasma. Viktige osmolytter er frie aminosyrer fra hydrolyse av plomme proteiner og uorganiske ioner (Na $^{+}$  og K $^{+}$ ) som taes opp fra morfiskens plasma (Craik & Harvey 1987). Ferdig ovulerte marine pelagiske oocytter inneholder ca. 92 % vann (Craik & Harvey 1987) og er fire til fem ganger større enn før hydrering (Craik & Harvey 1984). Hydrerte kveite-egg inneholder fire ganger så mye frie aminosyrer som ikke hydrerte (B. Norberg & A. Mangor-Jensen, pers. medd.). Man antar at svelling av oocytten skaper et press på follikkelcellene som omslutter oocytten, slik at follikkelcellene brister og oocytten frigjøres (ovuleres). Tiden fra én eggposjon til den neste har fullført en slik ovulasjonsyklus og er klar til gyting, kalles ovulasjonsintervall. Etter oocytene er gytt kalles de egg i denne oppgaven.





Figur 1.2. En forenklet modell av vitellogenese (c-f), sluttmodning (f-g), hydrering (f-g) og ovulasjon (g-h) av oocytter. Lys (a), temperatur og andre signaler (b) stimulerer hypofysen til å produsere gonadotropin (GtH). GtH følger blodbanene (c) til ovariet (e, prikket), og stimulerer follikkelcellene til produksjon av estradiol-17 $\beta$ . Estradiol-17 $\beta$  stimulerer celler i leveren (hepatocytter) (d) til å syntetisere VTG og ZrP. VTG og ZrP føres med blodet tilbake til ovariet (e), hvor det inkorporeres i oocytten og spaltes til plomme proteiner, hovedsaklig lipovitellin (Lv) og fosvitin (Fv). ZrP avsettes rundt oocytten slik at også eggskallet vokser. Modellen bygger hovedsaklig på data fra andre beinfisk, og er hentet fra (i alfabetisk rekkefølge): Craik & Harvey 1987; Kjesbu 1988; Oppen-Berntsen *et al.* 1990; Wallace 1978; Wallace 1985.

Når ikke stamfisker gyter naturlig i fangenskap, må vi sette oss inn i kveitens ovulasjonssyklus for å kunne stryke fisken på rett tidspunkt. Stryking av egg utenom ovulasjonsintervall har negativ effekt på overlevelse av marine egg (McEwoy 1984; Howell & Scott 1988; Norberg *et al.* 1991). Hovedproblemet er her at marine teleost-egg overmodnes i løpet av kort tid etter ovulasjon (Se Kjørsvik *et al.* 1990). Oocytter som ikke har ovulert er små og opake, og forekommer sjelden i eggporsjoner.

Dersom fisken utsettes for stressfaktorer som uvante temperatur- og lysforhold, førbetingelser, stryking og annen behandling, kan dette hemme fiskens reproduksjon (Billard *et al.* 1981). Hvis ikke inkorporeringen av alle nødvendige komponenter, sluttmodning, hydrering og ovulasjon blir fullført, kan dette få konsekvenser for eggets videre utvikling. For å beskrive egg samt å finne objektive kriterier for eggkvalitet er det viktig å velge parametre som er sentrale i oocytters utviklingsprosess, og som har betydning for eggets videre overlevelse.

Osmolalitet er et mål på innhold av ioner per kg. Under hydratiseringen tar oocytten opp væske for å utjevne en osmotisk gradient mellom oocytten og plasma. Viktige osmolytter ved svelling av oocytter og senere for egg, er frie aminosyrer og  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  (Riis-Vestergaard 1987). Ovulerte oocytter har tilnærmet lik osmolalitet som morfiskens plasma hos torsk (Davenport *et al.* (1981) og rognkjeks (*Cyclopterus lumpus*) (Kjørsvik *et al.* 1984a). Osmolalitet i plasma belyser stamfiskens vann- og saltbalanse, og er høyere i stressede stamtorsk (Kjesbu *et al.* 1989). Osmolaliteten i befruktete pelagiske egg er ca. 350 mOsmol, lavere enn osmolaliteten i sjøvann (1000 mOsmol) (Mangor-Jensen 1988). Eggene har derved mindre tetthet enn sine omgivelser. Dette gir eggene en oppdrift i vannmassene, som er av vital betydning for pelagiske egg både i naturen og i oppdrett. Under naturlige forhold er det viktig for eggenes utviklingssuksess at de flyter i vannmasser med bl.a. gunstige lys- og temperaturforhold, og ikke synker ned i dypet (Solemdal 1967). I en oppdrettssituasjon vil tunge kveite-egg synke til bunns i inkubatoren og derved lett bli utsatt for bakterieangrep (Høvik-Hansen & Olafsen 1989). Eggporsjoner med lav befruktningsprosent og høy andel deformiteter har høyere osmolalitet og derved mindre flyteevne enn motsvarende gode eggporsjoner (Kjørsvik *et al.* 1984a). Dersom stamkveitene blir stresset i gyteperioden kan dette dermed få konsekvenser for eggenes osmolalitet, som igjen er viktig for eggenes flyteevne og overlevelse.

Frie aminosyrer dannes ved hydrolyse av plomme proteiner (Craik & Harvey 1987). De er byggestener i proteinsyntesen, og således viktig for vekst av organismer (Wallace *et al.* 1986). Frie aminosyrer utgjør ca. 50 % av osmolaliteten i eggets plommemasse (Thorsen *et al.* 1990), og antas å ha betydning for hydratisering av oocytter (Fyhn 1990). Frie aminosyrer betraktes som en viktig energikilde i egg- og larveutvikling for torsk og kveite (Fyhn, 1989; 1990). Under overmodning akkumuleres frie aminosyrer i egg hos stør (*Acipenser güldenstädti*) (Federova 1976), karpe (Lat. navn ikke oppgitt) (Statova *et al.* 1975), brasme (*Abramis brama*) og mort (*Rutilus rutilus*) (Zhukinskiy *et al.* 1981) og fører til lav befruktningsprosent og overlevelse. Frie aminosyrer er foreslått som kvalitetskriterium av Farestveit (1990), Kjørsvik *et al.* (1990) og Mårstøl *et al.* (i trykk).

VTG inneholder ca. 20 % lipid (Campell & Idler 1980; Norberg & Haux 1985), og er en viktig lipidkilde i egg (Campell & Idler 1980). Totalt lipid består av ulike fettsyrer. De flerumettede fettsyrene 22:6 (n-3 PUFA) og 20:5 (n-3 PUFA) er essensielle for fisk (Watanabe 1982) og er blandt de dominerende fettsyrene i VTG hos piggvar (Silversand & Haux 1991). Eggets fettsyrer regnes som en viktig energikilde for arter som krever lang utviklingstid før de kan starte aktivt fødeopptak (Tocher & Sargent 1984). Fosfolipid i teleost-egg nyttes til oppbygging av membraner og inneholder opptil 50 % flerumettede fettsyrer (PUFA). Nøytralt lipid, som har et høyt innhold av triglyserider, består av ca. 37 % flerumettede fettsyrer, og brukes som energikilde gjennom utvikling av embryo (Tocher & Sargent 1984; Tocher *et al.* 1985). Eggenes innhold av fettsyrer i totalt lipid, lipidets fettsyresammensetning og innhold

---

av flerumettede fettsyrer (n-3 PUFA) har sammenheng med eggkvalitet hos marine fisk (Tocher & Sargent 1984; Ulvund & Grahl-Nielsen 1988).

Mengden plommemateriale som inkorporeres i eggene har betydning for eggstørrelse hos torsk (Kjesbu & Norberg 1991). Dersom inkorporering av alle nødvendige komponenter i oocytter blir avbrutt eller ikke fullstendig, kan dette sannsynligvis gi effekter på eggenes størrelse. Eggstørrelse og særlig variasjoner i eggstørrelse innen en gyteperiode er brukt for å forutsi klekkeprosent hos karpe (Kamler & Malczewski 1982).

I oppgaven er eggenes osmolalitet, innhold av fettsyrer og frie aminosyrer samt størrelse (eggdiameter og tørrvekt) valgt for å beskrive egg fra fire kveiter. Det er brukt ubefruktede egg fra eggperioder gjennom fiskenes gyteperiode. De ulike parametrene korreleres mot overlevelse fra stryking til dag åtte, som i oppgaven brukes som et objektivt mål på eggkvalitet. Dette gir grunnlag for å undersøke om eggenes osmolalitet, innhold av frie aminosyrer og fettsyrer samt størrelse, endres gjennom fiskenes gyteperiode. I tillegg vil det bli undersøkt om det er forskjeller i de ulike parametrene mellom fisk, og om de ulike parametrene har betydning for eggenes overlevelse til dag åtte.

---

---

## Kapittel 2

### Materiale og metoder

#### 2.1. Stamfisk

I forsøket inngikk fire hunnkveiter, som denne sesongen var de eneste som ble benyttet til stamfisk ved Austevoll Havbruksstasjon. Kveitene ble valgt ut til stamfisk på grunnlag av stor eggproduksjon og høy befruktningsprosent året før. De hadde vært minst tre år ved Austevoll Havbruksstasjon da forsøket startet februar 1989. To av fiskene var fanget på Møre-kysten før de var kjønnsmodne, mens to andre fisk ble fanget i kjønnsmoden alder i Bjørnefjorden av lokale fiskere (Tab. 2.1). Kveitene har siden ankomsten levd i et tildekket basseng (80m<sup>3</sup>) med elvegrus som bunnsstrat.

Til befruktning av eggene ble det brukt melke fra tre hannfisk. De hadde vært i det samme stamfiskbassenget som hunnene fra før forrige gytesesong.

Stamfiskbassenget ble tilført råvann fra 55 m dyp. I gytesesongen 1989 varierte vanntemperaturen mellom 6,2 og 7,5 °C i forsøksperioden, 10 februar - 15 april (Fig. 2.1). Den laveste temperaturen ble registrert av stasjonsvakt den første helgen i mars. Saltholdigheten var tilnærmet stabil 34 ppt. i hele gytesesongen.

I den perioden fiskene har vært ved Havbruksstasjonen, har de blitt føret etter appetitt med vekselvis hel sild (*Clupea harengus* L.) tilsatt vitaminkapsel, og lodde *Mallotus villosus*, oppkuttet akkar (*Todarodes saggitatus*) og spesialkomponert mykfôr fra Austevoll Fiskeindustri A/S. Alle forsøksfiskene har vist god appetitt, med unntak av i gytesesongen (I. Karlsen, Austevoll Havbruksstasjon, pers.medd.).

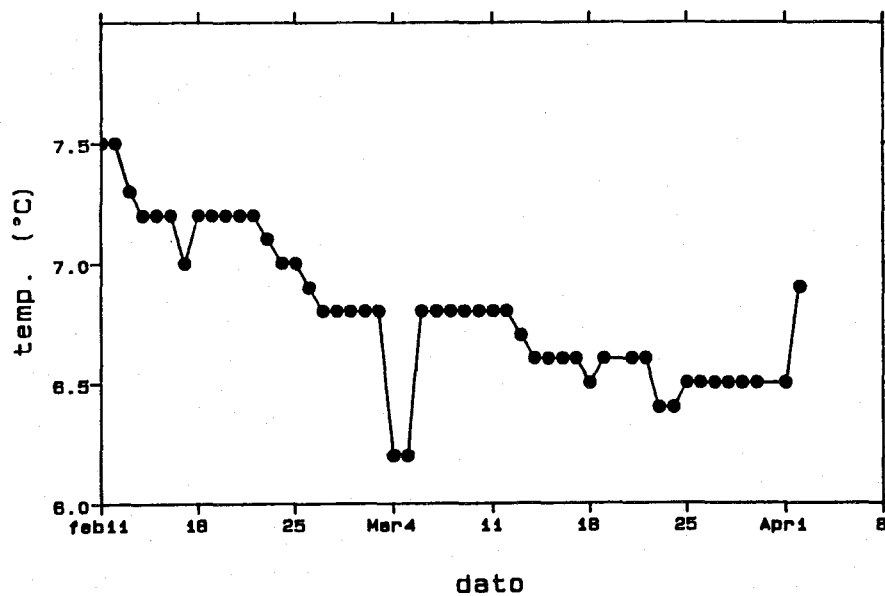
Fiskenes totallengde ble i oppgaven benyttet som mål på størrelse, fordi vektutstyr ikke var tilgjengelig (Tab. 2.1.).

Kveitene var ikke angrepet av sykdom i gytesesongen, men alle var infisert av kveiteikter (*Entobdella hippoglossi* sp.) (Schram & Haug 1988; Stavset Svendsen & Haug 1991) av varierende grad. Kveitene ble ikke formalinbehandlet i gytesesongen. Dette gjøres ved Austevoll Havbruksstasjon om høsten.

---

Tabell 2.1. Kveitenes totallengde (cm) ved forsøksstart, opprinnelig fangstområde og varighet av gyteperiode. Fiskene A, B, C og D er vist i rekkefølge etter størrelse.

Fisk	Lengde cm	Fangst- sted	Gyteperiode 1989	Antall strøkne eggposjoner
A	130	Mørrekysten, 1986	03/03 - 08/04	13
B	135	Mørrekysten, 1986	16/02 - 06/03	6
C	150	Bjørnefjorden, 1986	13/03 - 13/04	11
D	151	Bjørnefjorden, 1986	20/02 - 17/03	8



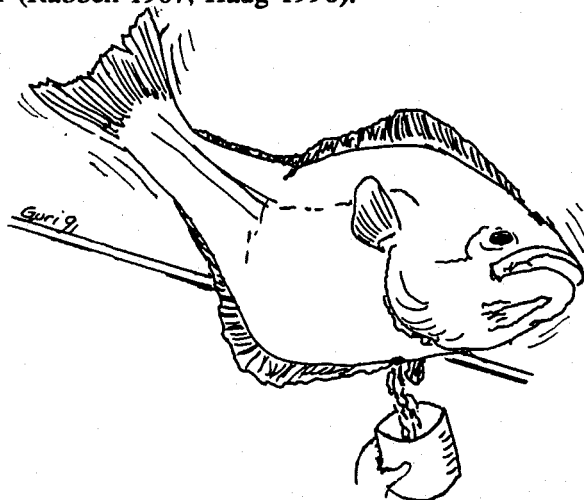
Figur 2.1. Temperatur i stamfiskbassenget i gytesesongen 1989. I denne perioden dekker temperaturregistreringene både stamfiskbasseng og klekkeri. Vanninntaket var på 55 m dyp.

## 2.2. Oppfølging av fiskenes ovulasjonsintervall

I perioden like før første forventede ovulasjonstidspunkt ble fiskene regelmessig tatt ut av vannet og ovulasjonsstatus vurdert. Ved et lett press på gonadene ble fasthetsgraden undersøkt, og genitalporen sjekket. Dersom gonadene var hard og genitalporen var sammentrukket, antok vi at oocytene i fiskens gonade ikke hadde startet å ovulere. Da hver fisk hadde gitt første eggporsjon, ble den sjekket etter 48 timer, deretter med 6 - 12 timers intervall inntil neste eggporsjon var gitt. Dette ble gjentatt til og med tredje eggporsjon (Norberg *et al.* 1991). Ved sjekking ble fisken løftet såvidt over vannflaten. Dersom ikke eggene rant lett ut av fisken, ble den sluppet tilbake i karet og tatt opp på ny ved anslått ovulasjonstidspunkt. Utover i gytelsesongen ble kveitene bare tatt opp ved forventet ovulasjonstidspunkt for å unngå unødig stress.

## 2.3. Eggmaterialet

Ved forventet ovulasjonstidspunkt, ble først hunnkveiten ledet til et mekanisert strykebord som beskrevet av Rabben (1987, 1990), og løftet til like over vannoverflaten (Fig. 2. 2.). Ferdig ovulerte egg rant lett ut av fiskens gonadeåpning. Dette betegnes som *stryking* i oppgaven. Fiskenes ovulasjonsintervall og ovulasjonstidspunkt er derfor i oppgaven synonymt med henholdsvis strykeintervall og stryketidspunkt. Nystrøkne egg ble samlet opp i et tørt litermål og deretter varsomt overført til en tørr plastbøtte med lokk. Det ble raskt tatt ut ca. 50 ml ubefruktede egg i et Pyrex glassbeger til prøver. Prøveglasset ble dekket med svart plast og transportert til klimarom (6 °C) hvor prøvetaking fant sted. To hannfisk ble straks strøket med lett hånd over gonaden, og melke ble samlet opp i et tørt plastbeger. Egg og melke ble blandet i forholdet 1000 : 1 (Rabben 1987; Haug 1990).



Figur 2.2. Stryking av egg fra hunnkveite. Kveiten ligger på en neoprenbelagt plate like over vannflaten. For å holde kveiten i ro på brettet må hun holdes over hodet og over sporden. Dette er ikke tatt med på figuren.

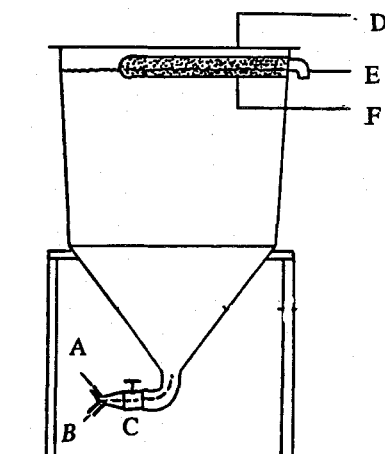
For å teste om valg av hannfisk hadde effekt på befruktningsprosenten, ble én eggporsjon fordelt på tre litermål. Melke fra tre hannfisk ble benyttet, slik at hver hannfisk befruktet hver sin del av en eggporsjon. Resultatene er vist i tabell 2.2. På grunnlag av resultatet, ble alle tre hannfisk vekselvis benyttet til befruktning av egg.

Tabell 2.2. Befruktning av egg med ulike hannfisk. Hannfiskene er gitt nummer 1,2,3 og andel befruktete egg er oppgitt i prosent (%)

Hannfisk nr.	% Befruktning
1	91
2	89
3	90

Etter befruktning ble sjøvann (ca. to ganger eggmengden) forsiktig tilført eggene. Bøtten med egg ble båret til klekkeriet og fylt med sjøvann inntil totalvolum av egg, melke og sjøvann utgjorde 10l. Vanntemperaturen var den samme som i både stamfiskbassenget og inkubatorene (Fig. 2.1). Etter 30 min i ro og mørke, ble 200 - 300 egg tatt ut med litermål. Disse ble brukt til å måle diameter og befruktningsprosent 16 - 24 timer senere. Eggene ble i mellomtiden oppbevart i mørke ved 5 - 6 °C.

Egg ble overført til en modifisert oppstrømsinkubator etter Jelmert & Rabben (1987), vist i figur 2.3. Maksimalt 1,0 l egg ble lagt inn i hver inkubator. Inkubatorene ble tilført vann fra 55 m dyp, som var patronfiltrert (5 µm) og UV. behandlet. Vanntemperaturen i inkubatorene varierte mellom + 6,2 og 7,5 °C i løpet av gytesesongen (Fig. 2.1.).



Figur 2.3. Inkubator for kveite-egg. A: Inntak av 55m vann. B: Inntak av oppsaltet sjøvann C: Kuleventil. D: Lystett lokk. E: Avløpsrør. F: Gjennomhullet rør med hette av silde.

Røkting av inkubatorene ble utført av klekkeriansvarlig. Døde egg ble fjernet ved først å legge inn et lag tyngre saltvann (ca. 40 ppt.) i bunnen av inkubatoren. Levende egg fløt over dette laget, mens døde egg sedimenterte. Døde egg ble tappet ut og mengden målt til nærmeste ml. annenhver dag fram til dag åtte. Under innlegging av egg og ved røkting av inkubator var det svak belysning i klekkeriet, ellers mørke.

## 2.4. Hygiene

Alle egg-grupper ble antibiotikabehandlet med Prefuran (Argent chemical lab., WA. USA) like etter befruktning. Prefuran i pulverform ble løst ut i sjøvann og tilsatt eggene. Vi benyttet anbefalt dosering som var 2 ppm. til 10 l sjøvann, med virketid på 30 min.

Det ble forsøkt å etablere en smittebarriere mellom stamfisk og klekkeri, ved at få personer tok hånd om befruktningsprosessen og den videre behandling av eggene. Personer som var i stamfiskbassenget under stryking var således ikke i kontakt med eggmaterialet. Et fåtall av stasjonens ansatte hadde adgang til klekkeriet. I klekkeriet ble det benyttet separat utstyr til hver inkubator, som akvariehåv, litermål samt planktonduk til avløpsrør. Alt utstyr som ble benyttet ved stryking og i klekkeri ble desinfisert i en blanding av husholdningsklorin og ferskvann i forholdet 1:10. Før nye eggporsjoner ble lagt inn, var inkubatorene rengjort, desinfisert med husholdningsklorin og deretter spylt først med ferskvann, deretter sjøvann.

## 2.5. Prøvetaking

### 2.5.1. Tidspunkt og framgangsmåte ved prøvetaking

Det ble tatt prøver av ubefruktede egg fra alle nylig strøkne eggporsjoner (Tab. 2.3). Eggporsjoner som ble gytt i karet er ikke medregnet.

Blodprøver til analyse av morfiskens plasmaosmolalitet ble tatt umiddelbart etter stryking av egg, minimum én gang av hver fisk i løpet av gyteperioden.



Tabell 2.3. En oversikt over prøvetaking av egg. Befruktingsprosent (% Befr.) er målt på alle eggporsjoner. Eggdiameter (Diam.) er målt på befruktede egg, mens tørrvekt (Tørrv.), osmolalitet (Osmo), frie aminosyrer (FAA) og fettsyrer (Fettsy.) er målt på ubefruktede egg. Måleenheten er vist under hver parameter. Antall parallelle prøver er vist i parentes under hver parameter. Tabellen viser hvilke eggporsjoner det er tatt prøver fra for de ulike parametrene, A = alle strøkne eggporsjoner, X = Alle eggporsjoner, med unntak av et par porsjoner (Dette fremgår av de aktuelle figurer i resultatdelen), mens tallene refererer til eggporsjon nummer for hver fisk.

#### FORSØKSPARAMETRE

Fisk	Antall strøkne porsjoner	% Befr.	Diam. mm (25)	Tørrv. mg (2 á 25)	Osmo. mOsmol/kg <sup>-1</sup> (1 á 25)	FAA nmol (3 á 25)	Fettsy. µg/ wt % (2 á 25)
A	13	A	A	X	X	2,3,5,7	2,3,5,7
B	6	A	A	X	X	1,3,5,8	3,5,7
C	11	A	A	X	X	1,3,5,7	1,3,5,7
D	8	A	A	X	X	1,3,5,7	1,3,5,7

Ubefruktede egg ble undersøkt på urglass i et svakt opplyst klimarom (6 °C), med Wild Heerbrugg lupe (12 X). Døde og misfargede egg ble fjernet. Overskudd av ovarievæske på glassbegeret ble fjernet med glasspipette og filterpapir. Egg ble overført til merkede prøverør (Tab. 2.3.) og straks frosset inn ved - 18 °C. Nærmere informasjon om prøvetaking av de ulike parametrene er gitt under de aktuelle avsnitt.

Utvalget av prøver til fettsyre- og aminosyreanalyser, gir resultater for en hel gyteperiode for fisk B og tilnærmet hel for fisk D, som hadde de korteste gyteperiodene. For fisk A og C gir resultatene et bilde av fettsyre- og aminosyreinnhold fram til halvendt gyteperiode.

#### 2.5.2. Befruktingsprosent og overlevelse.

Befruktingsprosent ble målt på 100 egg 16 - 24 timer etter befruktning.

Overlevelse (%) ble beregnet på dag 8 ut fra strøket eggmengde og dødelighet i eggfasen. Kumulativ dødelighet fra stryking til dag åtte i eggporsjonene fra kveitene er vist i figur 1, Vedlegg C.

### 2.5.3. Osmolalitet

Til osmolalitetmålinger ble 25 ubefruktede egg fra hver eggporsjon overført samlet til en 1,8 ml plast cryotube, og frosset inn ved  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Målingene ble gjort inntil to måneder etter innfrysing.

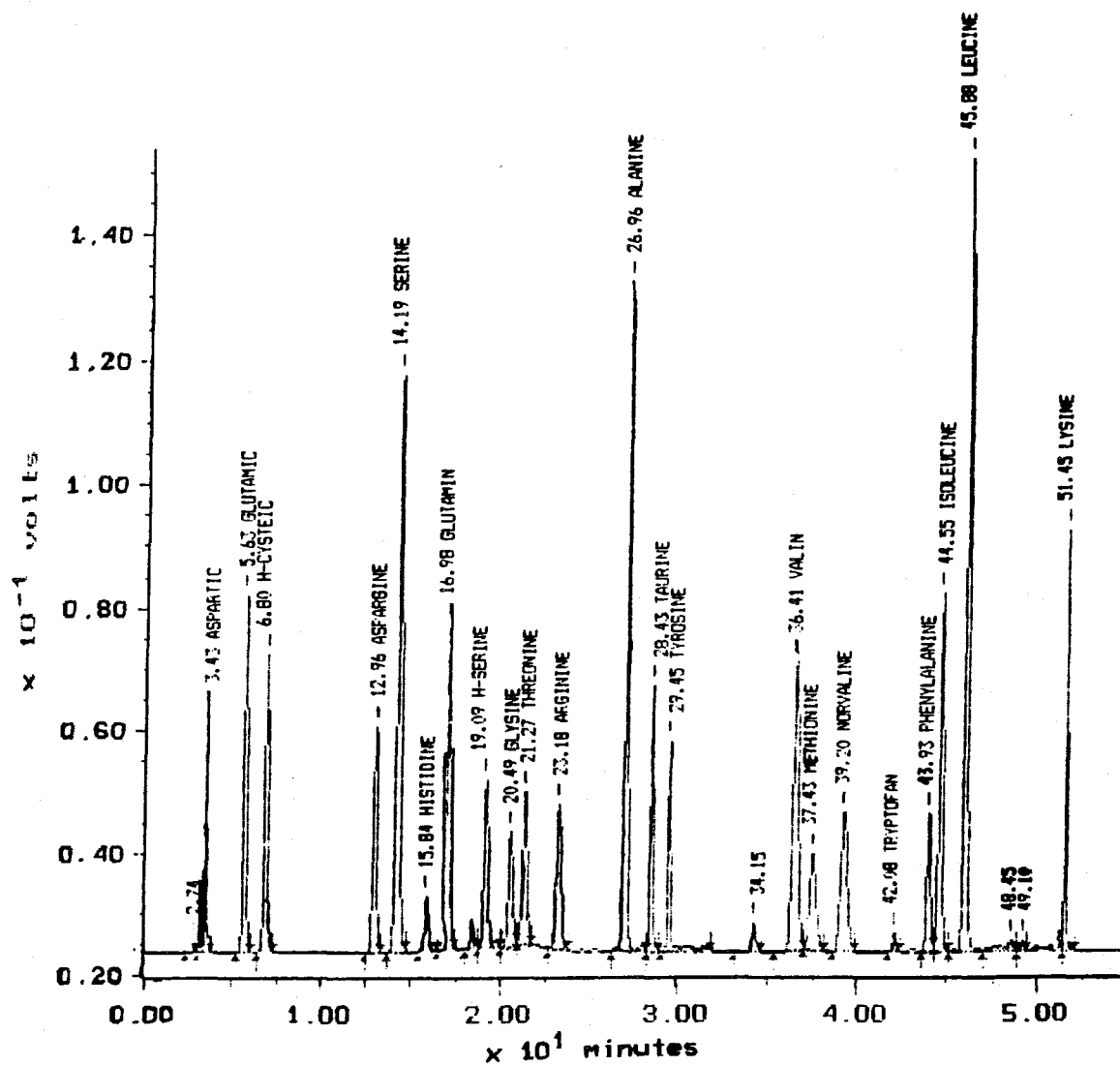
Frosne eggprøver ble tint i kjøleskap og deretter knust med ultralyd (Cell disrupter) ved 40 - 50 megaHertz i ca. 5 sek. Homogenatet ble sentrifugert i 5 min. ved 8000 omdr./min. Supernatanten ble pipetert over til et 1 ml eppendorfrør. Hver supernatant (10  $\mu\text{l}$ ) ble målt åtte ganger på et 5500 Damptrykk osmometer (WESCOR). Tre ulike standardløsninger produsert av WESCOR inc. ble benyttet i referansekurver: 100 mOsmol/kg (OS-010), 290 mOsmol/kg (OS-029) og 1000 mOsmol/kg OS-100. Nye standardkurver ble brukt for hver eggporsjon som ble målt. Osmolaliteten oppgives i mmol/kg. Apparaturen kan måle konsentrasjoner mellom 0 - 1.999 mmol/kg. Reproduserbarhet er  $\ll 2$  mmol/kg.

### 2.5.4. Frie aminosyrer

Tre ubefruktede egg fra hver eggporsjon ble frosset inn individuelt på separate eppendorfrør (1,8 ml), og brukt til analyse av frie aminosyrer. Analysene ble gjort maksimalt ti måneder etter prøvetaking og innfrysing.

Aminosyrene ble ekstrahert i 1N  $\text{HNO}_3$  i to timer etter en metode av A. Mangor-Jensen (pers. medd.), se vedlegg A. Analyse av frie aminosyrer i kveiteegg ble gjort på reversert fase High Performance Liquid Chromatograph (HPLC), med autoinjektor (Gilson 231) og forkolonne fluoresens-derivatisering med o-Phthaldialdehyd/2-mercaptoetanol (OPA/MCE) (Turnell & Cooper 1982). Metoden gir en kvalitativ og kvantitativ bestemmelse av aminosyrer. Hver analyse varte 55 min. Et kjølebad (HETO, Intermed) var tilkoblet systemet, for at prøvene skulle ha like temperaturforhold. En stabil temperatur på  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  ble benyttet. For nærmere informasjon om instrumentbetingelser og reagenser se vedlegg A1.

Aminosyre-derivater ble identifisert ved at deres relative retensjonstider ble sammenlignet med referansetoppene til standardaminosyrene homocystein, homoserin og norvalin. Aminosyrenes konsentrasjon ble bestemt ved å sammenligne arealet for hver aminosyretopp med arealet til internstandarden homocystein (Turnell & Cooper 1982). Ved bruk av denne metoden detekteres aminosyrene aspartat, glutamat, asparagin, serin, histidin, glutamin, glysin, treonin, arginin, alanin, taurin, tyrosin, valin, metionin, tryptofan, fenylalanin, isoleucin, leucin og lysin (nevnt i den rekkefølge de detekteres på HPLC, se figur 2.4.). Tryptofan var ustabil ved bruk av denne metoden, og ble ikke detektert i flere prøver. For å få et likt sammenligningsgrunnlag, ble derfor tryptofan utelatt i bearbeiding og tolking av data. Analysemetodens nøyaktighet var beregnet til 8,2 %.



Figur 2.4. Kromatogram fra analyse av frie aminosyrer med HPLC.

Deteksjonsgrensen var 38 fmol (Turnell & Cooper 1982).

Rådataene fra kromatografering ble automatisk overført til Copam PC-501 via Maxima programvare (Forhandlet av Instrumentteknikk).

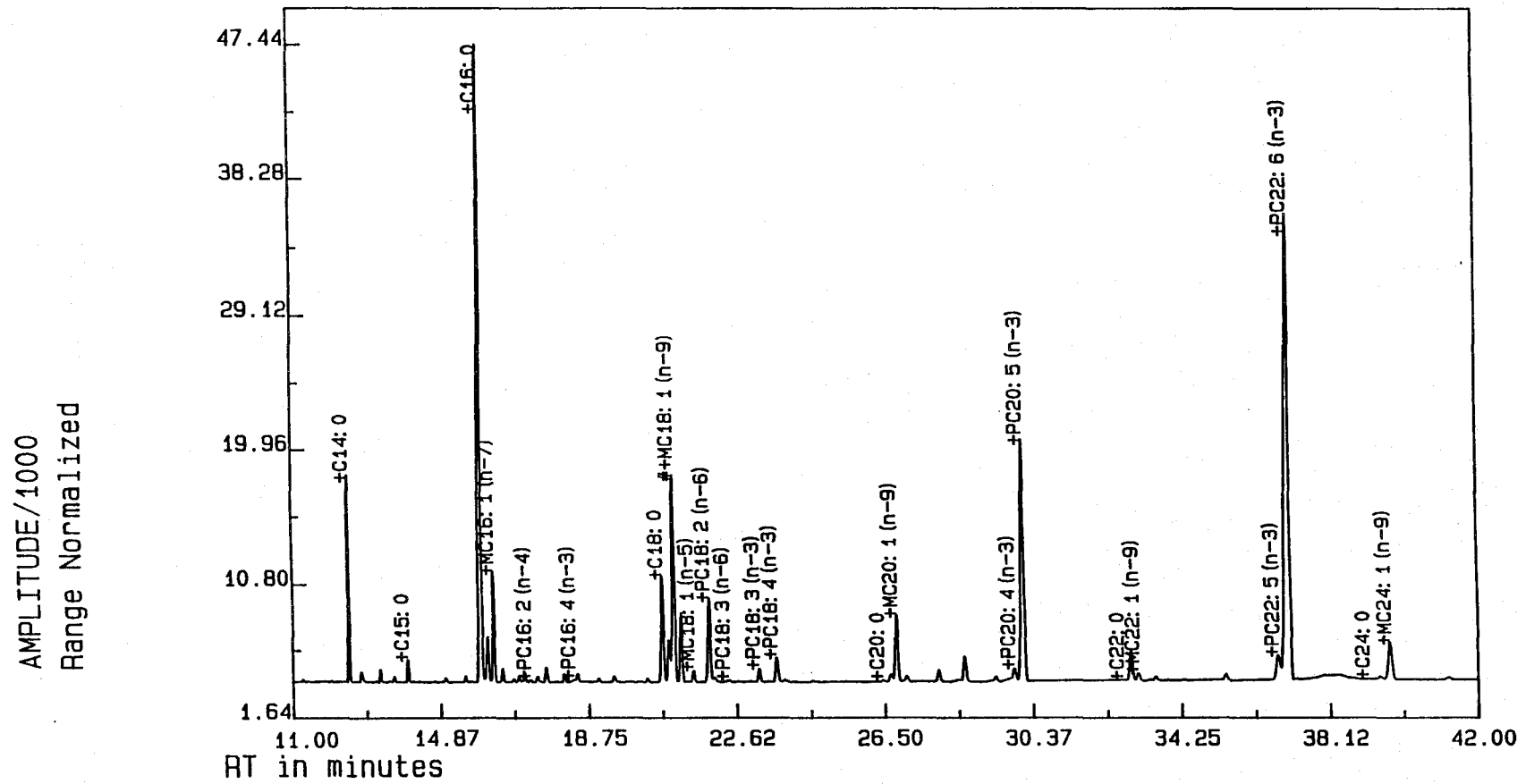
### 2.5.5. Fettsyrer i totalt lipid.

Det ble benyttet to parallelle prøver fra hver eggporsjon, som hver inneholdt 25 ubefruktede egg. Eggene ble lagt på frys ( -18 °C) i 10 ml Sovirel glassrør (Pyrex) fylt med 4.5 ml kloroform : metanol (2:1) tilsatt 0.005 % butyl-hydroksytoluen (BHT) for å hindre oksydering av fettsyrene. Prøvene lå på frys ( -18 °C) i inntil fire måneder før de ble opparbeidet. I tillegg ble det for hver eggporsjon tatt 4.5 ml kontrollprøve av kloroform/ metanolløsningen (uten egg).

Fettsyrer i totalt lipid ble ekstrahert med kloroform : metanol etter en metode av Klungøy *et al.* (1989). Fettsyrene ble analysert ved Kjemisk laboratorium, Senter for Miljø, Havforskningsinstituttet, på gasskromatograf (GC) som fettsyremetylestere etter en syrekatalysert transesterifisering i metanol (Klungøy *et al.* 1989). Prøvene ble injisert med autoinjektor. Det er beregnet at ca. 25 ng fettsyrer injeseres hver gang. GC kan detektere injeserte prøver på mindre enn ett ng. Det aksepteres en feilmargin på 10 % samlet for opparbeiding og analyse (S. Wilhelmsen, Kjemisk laboratorium, Senter for Miljø, Havforskningsinstituttet, pers. medd.). Metode for opparbeiding, instrumentbetingelser og benyttede kjemikalier er vist i vedlegg A2.

Individuelle fettsyrer ble identifisert ved å sammenligne dem med kjente standarder. Fettsyrene ble mengdebestemt etter en sammenligning med eksterne standardprøver. En standardprøve ble analysert for hver tiende eggprøve. Et kromatogram fra fettsyreanalyse er vist i figur 2.6.

Resultater for enkeltfettsyrer er oppgitt i relative mengder ( % av total fettsyreinhold i hver prøve), mens totalt innhold av fettsyrer er oppgitt i absolutte mengder (µg pr egg). Metode for utregning av absolutt mengde fettsyrer er vist i vedlegg A.



Figur 2.6. Kromatogram fra fattyreanalyse. Fattyrene er vist i den rekkefølge de detekteres på GC.

### 2.5.6. Eggstørrelse

#### Diameter

Diameter ble målt 16 til 24 timer etter befruktning på 25 egg fra samme porsjon. En Wild Heerbrugg lupe (12 X) ble benyttet. Målenøyaktigheten var oppgitt å være +/- 0,08 mm.

#### Tørrvekt

Til tørrvektmålinger ble det tatt ut to parallelle prøver som hver bestod av 25 egg. Eggene ble overført til 1,8 ml plast cryotuber (Nunc, Roskilde, Danmark), og frosset inn ved -18 °C. Prøvene ble veiet innen seks måneder. Frosne eggprøver ble tint i kjøleskap ved 4-5 °C i to timer. Den tinte prøven (egg og evt. væske) ble overført til innveide aluminiumsskåler og tørket i et Termaks varmeskap i 48 timer ved 60 °C (Senstad 1984). Aluminiumsskålene med egg ble enkeltvis tatt ut av varmeskap på en varm petriskål, og veid på elektrobalansvekt til +/- 10 µg (Mettler M 3). De to parallelle prøvene ble veid med en måneds mellomrom.

### 2.5.7. Tekst- og tallbehandling

Tekstbehandling ble utført på Copam PC-501 med Word Perfect, versjon 5.1. Til tallbehandling ble det brukt programvaren RS/1 versjon 4.21 til beregning av gjennomsnittsverdier ( $\bar{x}$ ) og standardavvik ( $s$ ), enveis ANOVA, lineære regresjoner og multiple regresjoner. I enveis ANOVA ble det brukt et signifikansnivå på 0,05 og 95 % konfidensintervall. Data fra enveis ANOVA (Group Summary table) som viste signifikante forskjeller mellom fisk, ble videre brukt i Students Newman-Keuls Simultaneous Multiple Range test (SNK). I tillegg ble Sirius multivariatanalyse (Karstang & Kvalheim 1990) brukt for å beskrive forskjeller i innhold av frie aminosyrer og fettsyrer mellom fisk og eggporsjoner. For nærmere beskrivelse av multivariat databehandling henvises til Wold (1978).

## Kapittel 3

### Resultater

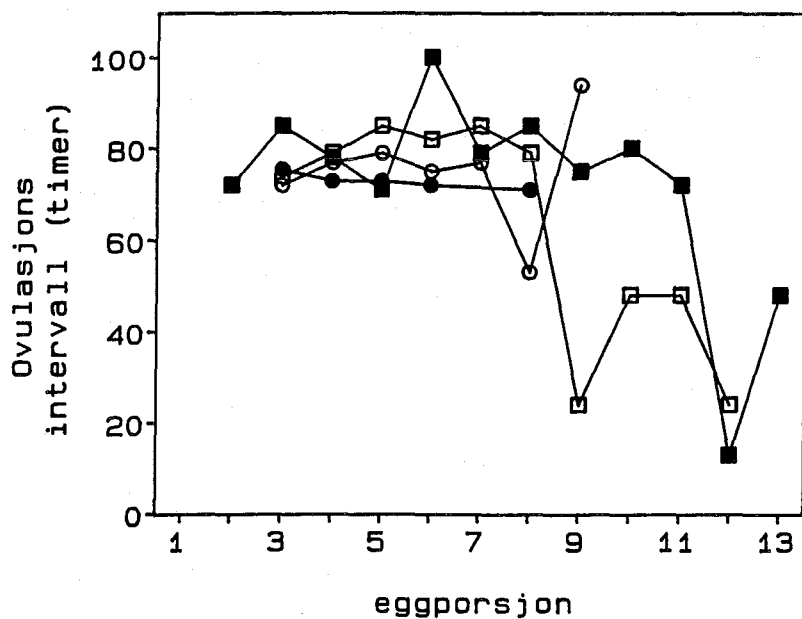
#### 3.1. Ovulasjonsintervall

Fiskenes gjennomsnittlige ovulasjonsintervall er vist i tabell 3.1. Fisk B hadde regelmessig ovulasjonsintervall gjennom hele gyteperioden, mens fisk D hadde regelmessig intervall inntill syvende eggporsjon. Fisk A og C hadde varierende ovulasjonsintervall i siste halvdel av gyteperioden (Fig. 3.1.).

Tabell 3.1. Kveitenes gjennomsnittlige ovulasjonsintervall i gyteperioden. Gjennomsnittsverdier ( $\bar{x}$ ) og standardavvik (s) er oppgitt i timer. Kveitene A, B, C og D er oppgitt i rekkefølge, etter økende størrelse.

Fisk	$\bar{x}$	s
A	80	9
B	73	2
C	80	5
D	75	11

Nylig ovulerte egg var glassklare, hadde regelmessig form og jevn overflate. Små mengder ovarievæske fulgte med eggene under stryking. Innslag av overmodne egg ble observert i enkelte eggporsjoner. Overmodne egg hadde uregelmessig form, hvit kjerne og var blakke på farge. Eggeskallet hadde en grovere struktur, og punkterte lettere enn nylig ovulerte egg.



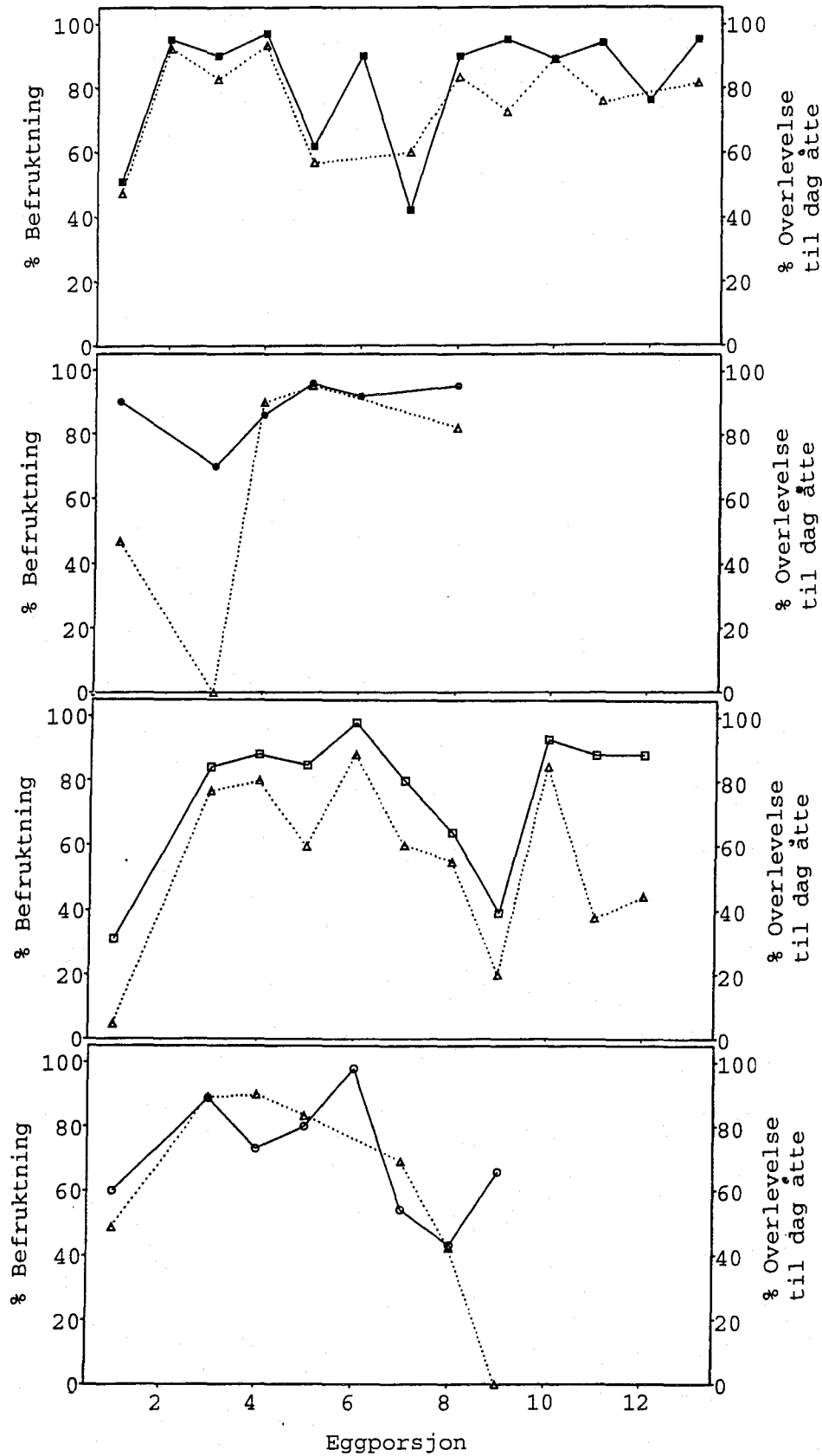
Figur 3.1. Ovulasjonsintervall mellom eggposjoner fra fisk A (■) B (●), C (□) og D (○) gjennom deres gyteperiode.

### 3.2. Befruktning og overlevelse

Befruktningsprosent og overlevelse til dag åtte i eggposjoner gjennom fiskenes gyteperioder er vist i figur 3.2.

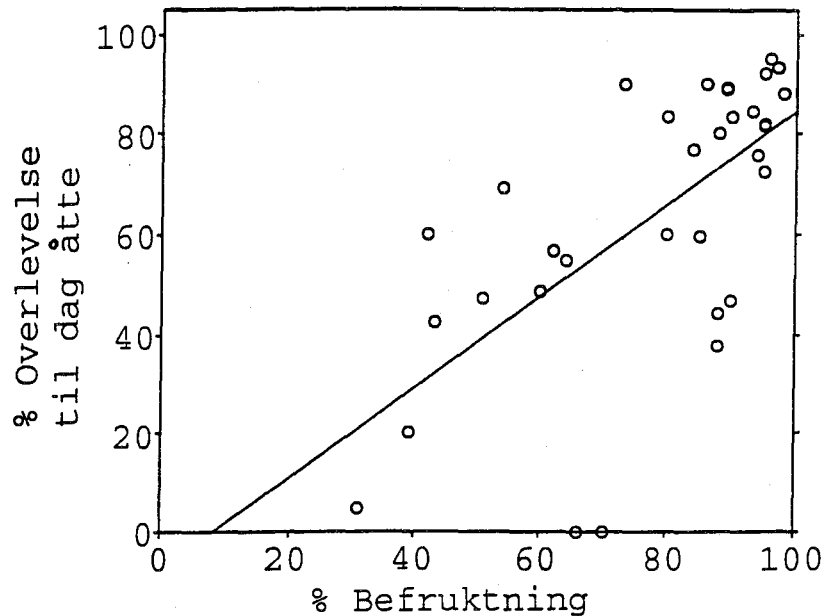
Eggposjoner fra de fire fiskene hadde ikke signifikante forskjeller i befruktningprosent eller overlevelse til dag åtte ( $P = 0,27$ , enveis ANOVA).





Figur 3.2. Befruktningsprosent og overlevelse til dag åtte i eggporsjoner til fiskene A(■), B (●), C (□) og D (○) gjennom gyteperioden. Befruktningsprosent er vist med heltrukken linje og ulike symboler for hver fisk som vist over, mens % overlevelse til dag åtte er vist med trekant forbundet med stiplet linje.

Det ble funnet en signifikant sammenheng mellom befruktningsprosent og prosent overlevelse til dag åtte ( $P < 0,01$ ,  $r^2 = 0,42$ ), (Fig. 3.3.). Ved å utelukke eggporasjoner med 0% overlevelse til dag åtte var  $P < 0,01$ , mens  $r^2 = 0,52$ .



Figur 3.3. Korrelasjon mellom befruktningsprosent og prosent overlevelse til dag åtte for alle eggporasjoner fra fire fisk. Regresjonslinjen har ligning:  $0,92 * X - 7,53$ . Antall punkt er 33.

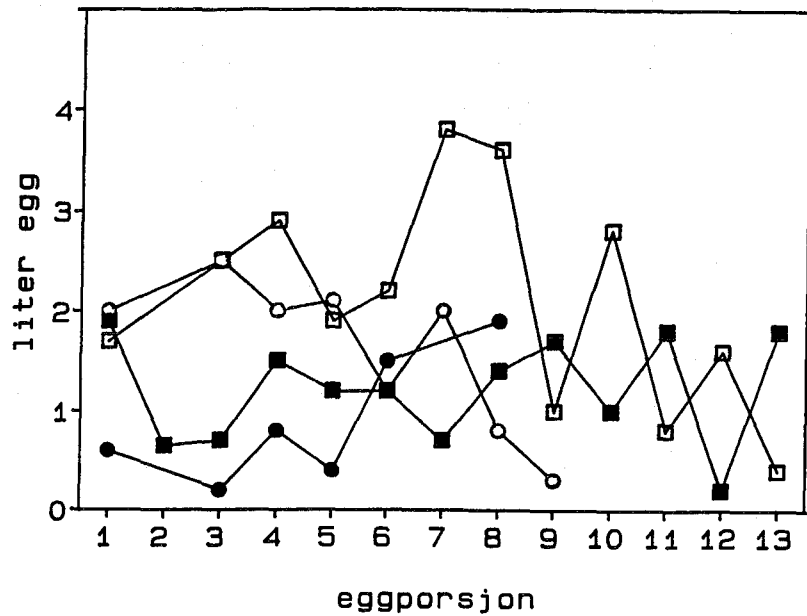
### 3.3. Eggproduksjon

Totalt strøket eggvolum fra forsøksfiskene er vist i tabell 3.2. Strøket eggvolum fra de fire fiskene gjennom gyteperioden er vist i figur 3.4.

Fisk C hadde signifikant høyere eggproduksjon enn fisk A og B ( $P < 0,05$ , SNK). Det ble ikke funnet signifikant forskjell i eggproduksjon mellom fisk A, B og D.

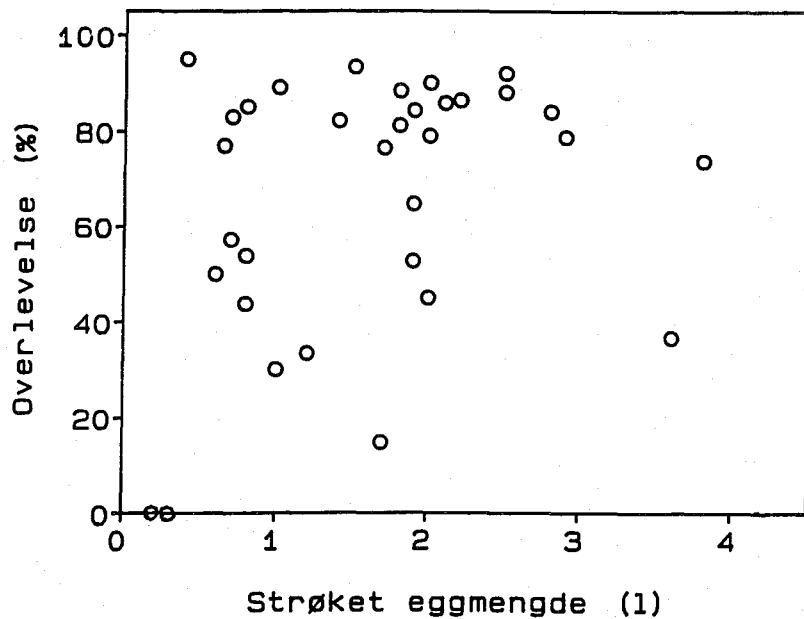
Tabell 3.2. Antall strøkne eggporasjoner og strøket eggvolum (liter) totalt, og per eggporasjon, for hver av fiskene A, B, C, D. Fiskene er vist i rekkefølge etter økende størrelse.

Fisk	Antall strøkne eggporasjoner	Eggvolum (l) strøket totalt	Eggvolum (l) per porasjon
A	13	15,75	1,2
B	6	5,4	0,9
C	11	24,8	2,25
D	8	12,9	1,61
Totalt	39	58,85	



Figur 3.4. Eggporsjonsstørrelse til fisk A (■), B (●), C (□) og D (○) gjennom fiskenes gyteperiode.

Det ble ikke funnet sammenheng mellom størrelse på eggporsjonene og overlevelse til dag åtte ( $P = 0,75$ ), (Fig.3.5.). Det ble ikke oppnådd lavere signifikansnivå ved å trekke ut eggporsjoner med 0 % overlevelse til dag åtte fra korrelasjonen.



Figur 3.5. Strøket eggvolum (l) korrelert mot prosent overlevelse til dag åtte i eggporsjoner fra de fire fiskene. Antall punkt er 33.

### 3.4. Osmolalitet

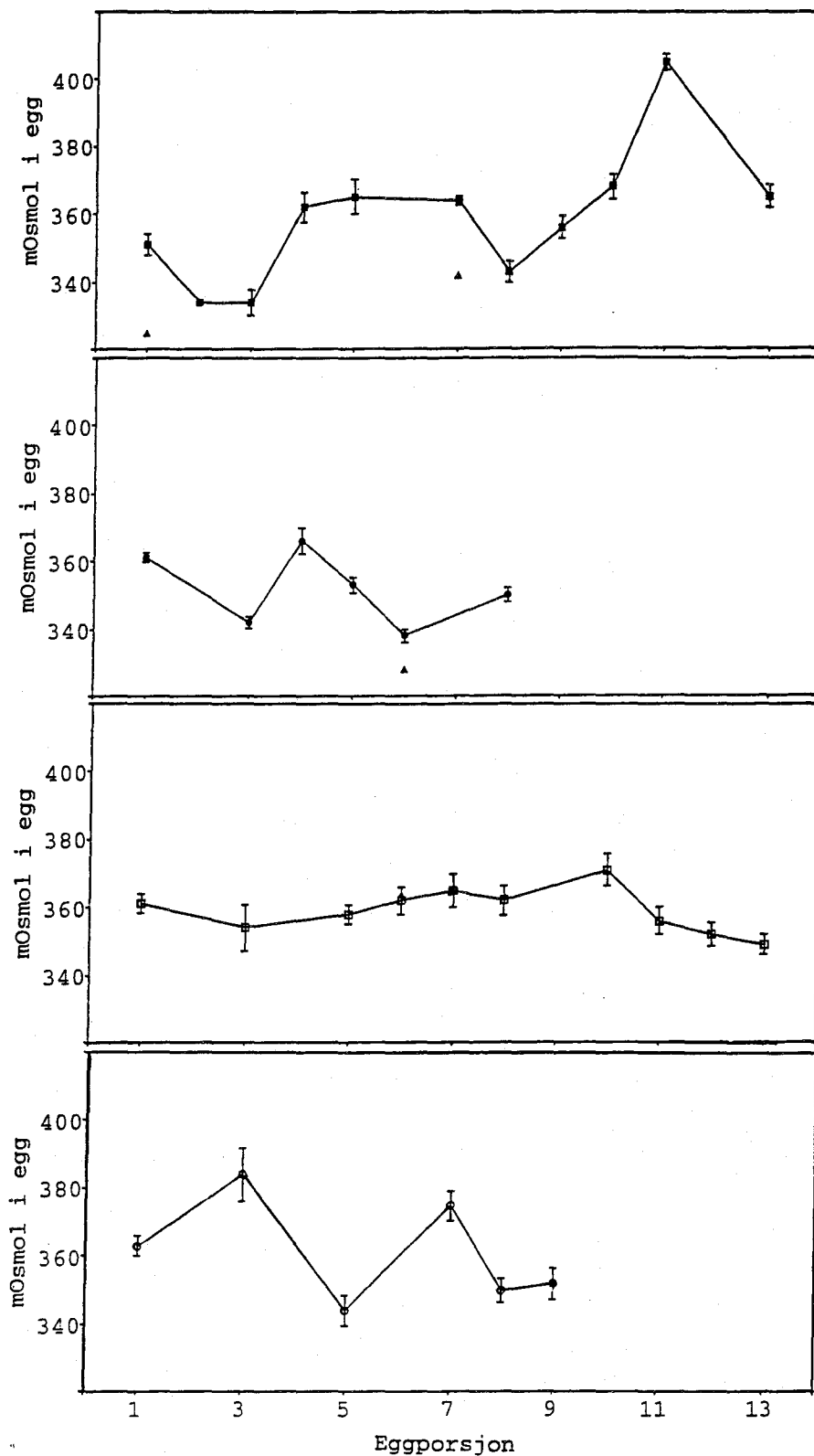
Gjennomsnittlig osmolalitet i egg fra forsøksfiskene er vist i tabell 3.3.

Tabell 3.3. Gjennomsnittlig osmolalitet i egg fra fire kveiter gjennom deres gyteperiode. Fiskene A, B, C og D er vist i rekkefølge etter økende størrelse. Osmolaliteten er oppgitt i mOsmol/kg<sup>-1</sup>, gjennomsnittsverdi som  $\bar{x}$ , og standardavvik som s.

Fisk	$\bar{x}$	s
A	359	19
B	352	11
C	360	6
D	361	14

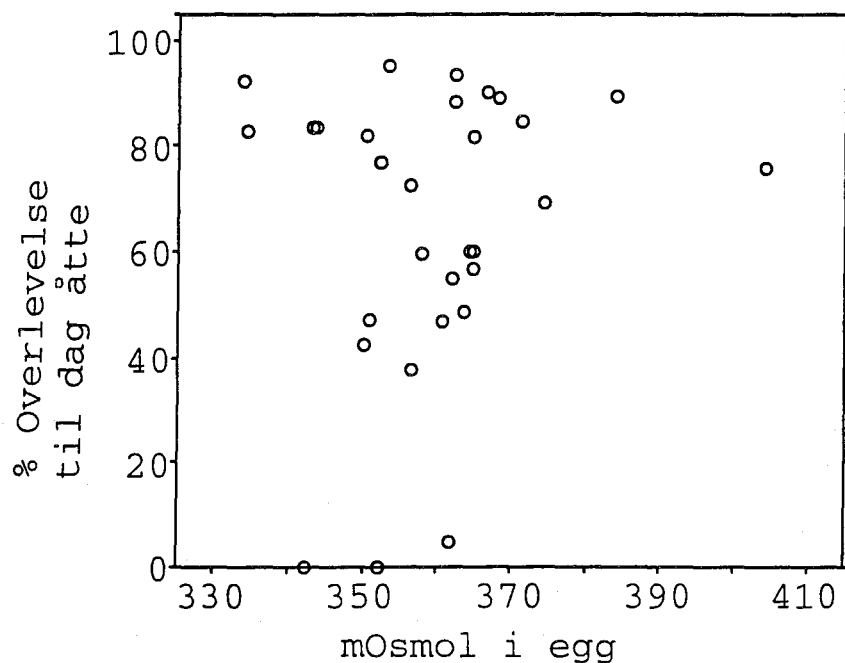
Osmolaliteten i kveitenes eggporsjoner gjennom gyteperioden er vist i figur 3.6. Det var ikke signifikant forskjell i osmolalitet mellom eggporsjoner fra de fire fiskene ( $P = 0,69$ , enveis ANOVA).

Det ble funnet tilnærmet lik osmolalitet i egg og blodplasma fra fisk C og D (Fig. 3.6.). Plasmaosmolaliteten til fisk A og B var maksimalt 26 mOsmol/kg<sup>-1</sup> lavere enn eggosmolalitet (Fig. 3.6.).



Figur 3.6. Osmolalitet i kveite-egg gjennom gytesesongen for fisk A (■), B (●), C (□) og D (○). Hvert punkt er gjennomsnitt av åtte replikater av samme prøve. Standardavvik til replikatene for hver eggporsjon er inntegnet for hvert punkt. Osmolalitet i plasma for de ulike fiskene er vist. Plasmaosmolaliteten er symbolisert med ▲. For fisk C og D sammenfaller plasmaosmolalitet med eggosmolaliteten, og er derfor markert med en pil.

Det var ikke signifikant sammenheng mellom osmolalitet og overlevelse, ( $P = 0,489$ ), (Fig. 3.7.). Det ble ikke funnet signifikant sammenheng ved å trekke ut eggposjoner med 0 % overlevelse fram til dag åtte.



Figur 3.7. Eggosmolalitet korrelert mot overlevelse av eggposjoner til dag åtte, fra fiskene A, B, C og D. Antall punkt er 30.

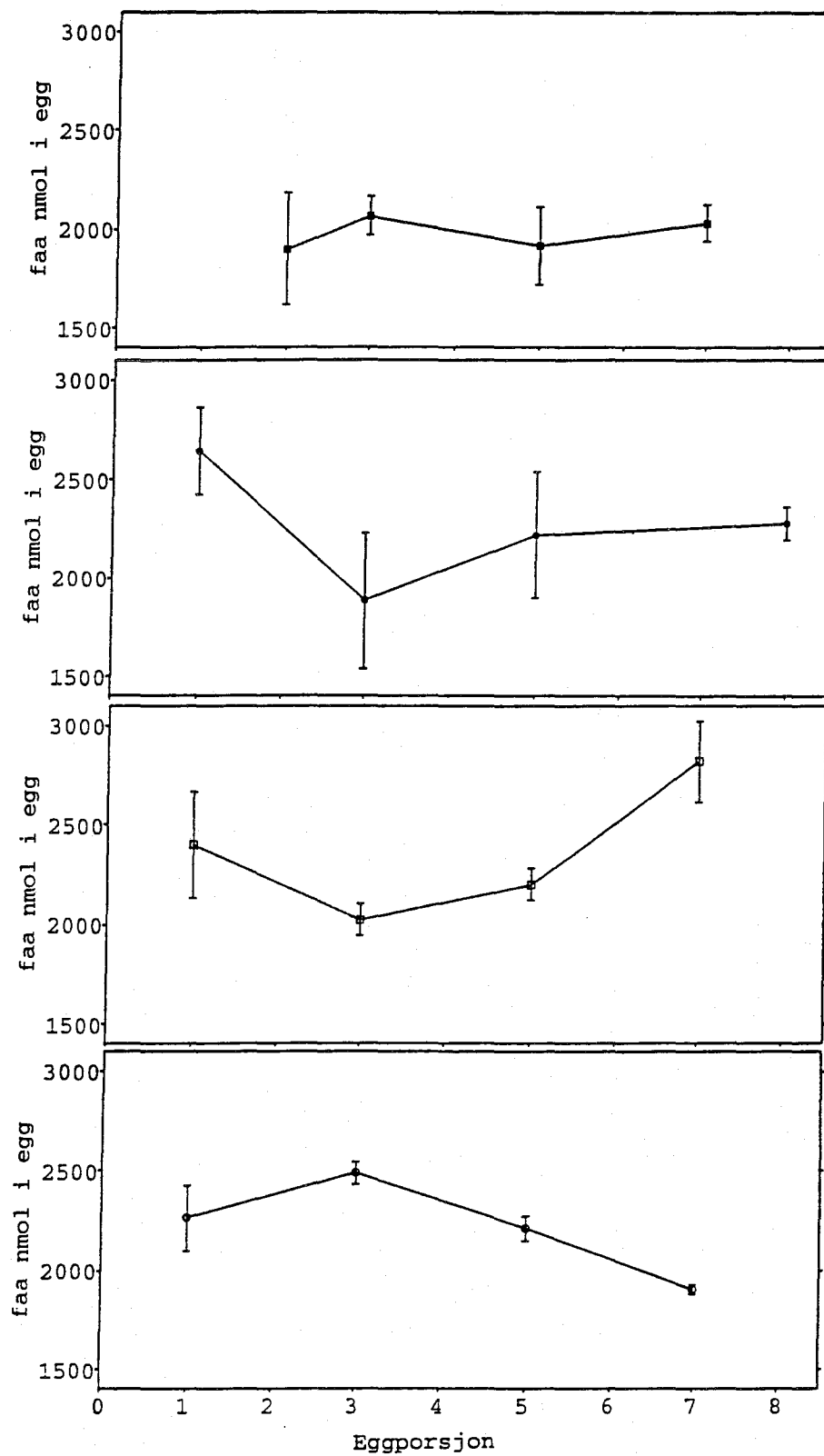
### 3.5. Frie aminosyrer

Gjennomsnittlig totalinnhold av frie aminosyrer i egg fra forsøksfiskene er vist i tabell 3.4.

Tabell 3.4. Gjennomsnittlig totalinnhold av frie aminosyrer i egg fra fisk A, B, C og D gjennom gyteperioden. Gjennomsnitt ( $\bar{x}$ )- og standardavvik (s) er oppgitt i nmol per egg. Fiskene er vist i rekkefølge etter økende størrelse.

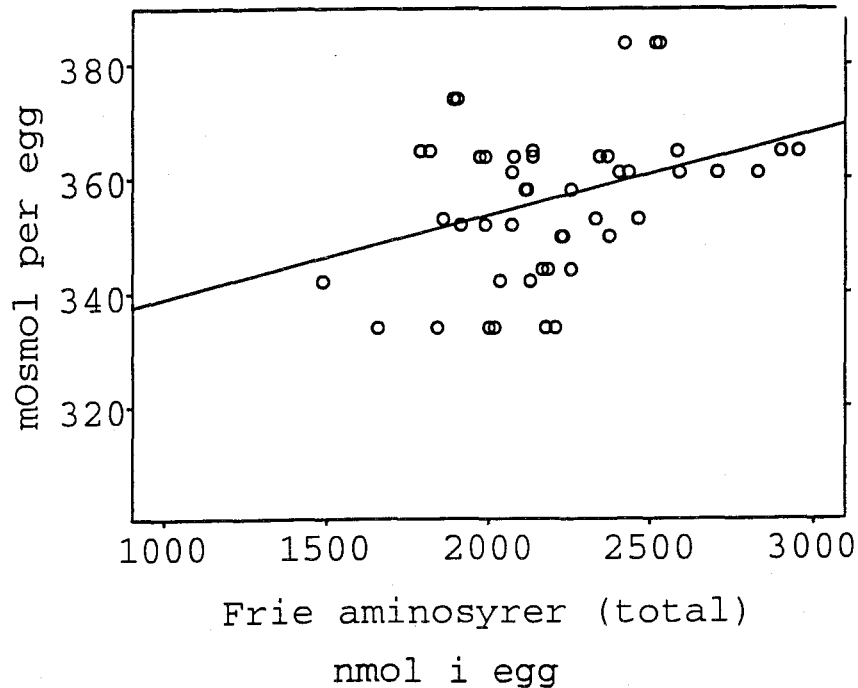
Fisk	$\bar{x}$	s
A	1977,4	173,7
B	2255,0	360,4
C	2332,4	352,7
D	2214,8	230,4

Figur 3.8. viser totalinnhold av frie aminosyrer i egg fra forsøksfiskene gjennom gyteperioden. Totalinnhold av frie aminosyrer i egg fra fisk C var signifikant høyere enn totalinnholdet i egg fra fisk A ( $P < 0,05$ , SNK). Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom de andre fiskene.



Figur 3.8. Totalinnhold av frie aminosyrer i eggporsjoner gjennom gyteperioden for fisk A (■), B (●), C (□) og D (○). Hver analyserte eggporsjon er representert med tre punkt, som hvert er analyse av ett enkelt egg. Gjennomsnittsverdier er vist med heltrukken linje.

Det ble funnet en signifikant, men svak sammenheng mellom eggenes totalinnhold av frie aminosyrer og osmolalitet ( $P < 0,02$ ,  $r^2 = 0,11$ ), (Fig. 3.11.).

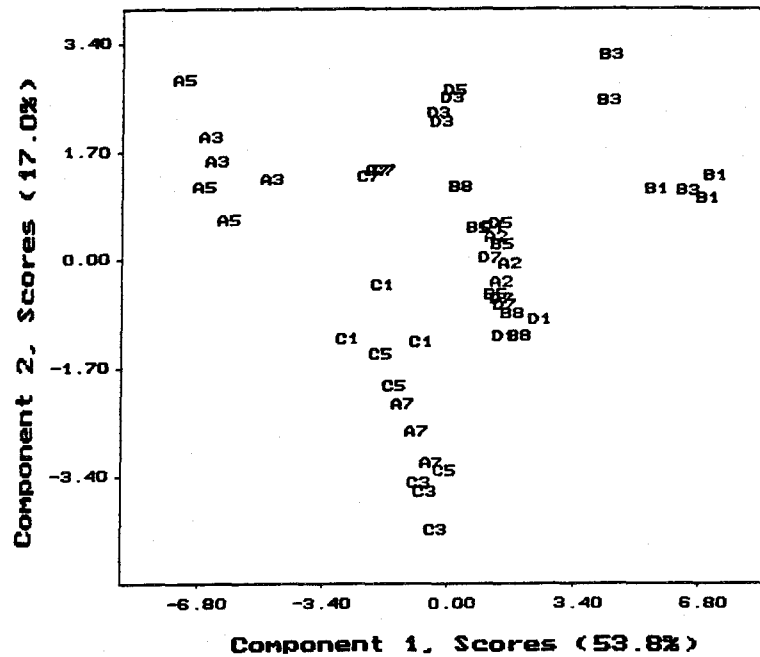


Figur 3.9. Korrelasjon mellom totalinnhold av frie aminosyrer og osmolalitet i egg fra alle eggporsjoner til fire fisk. Ligningen til regresjonslinjen er:  $0,01 * X + 324,59$ . Antall punkter er 48.

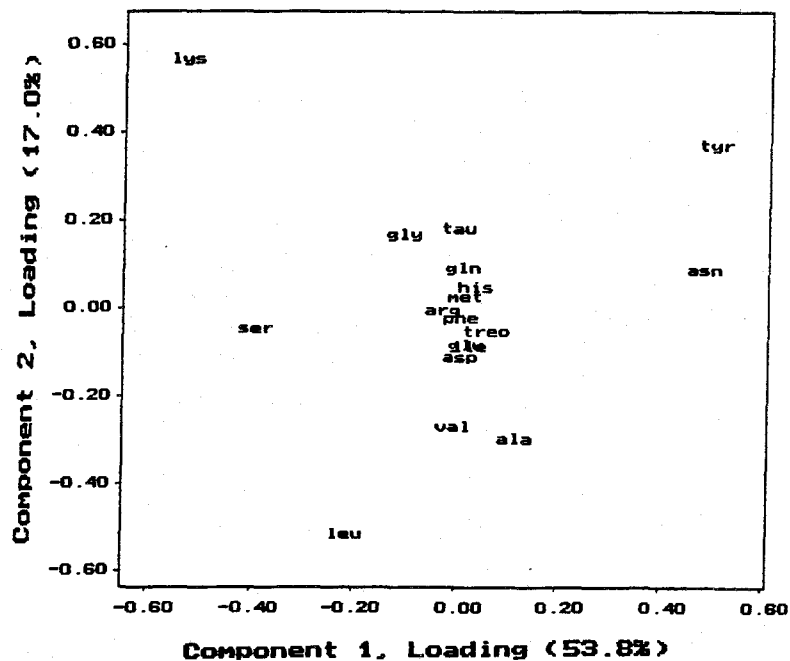
Egg fra forsøksfiskene inneholdt størst mengde av aminosyrene serin, leucin, lysin, alanin, glutamin og valin. Alle eggporsjoner fra kveite inneholdt de 18 frie aminosyrene som ble detektert. Det ble ikke funnet et entydig mønster i innhold av frie aminosyrene gjennom sesongen (Vedlegg B, tab. B1 og B2).

Det ble ikke funnet klare grupperinger av fiskene i en multivariat modell (Fig.3.10). Imidlertid skilte enkelte eggporsjoner seg ut. Det ble funnet størst avstand mellom eggporsjoner fra fisk A og fisk B langs den horisontale akse. Innholdet av de ulike frie aminosyrene utgjorde 70,8 % av den totale variasjonen mellom eggporsjonene. Spredning av egggrupper langs den horisontale akse forklarte 53,8 % av den totale variasjonen, mens spredning langs den vertikale akse forklarte 14,9 % av den totale variasjonen. Figur 3. 11 viser hvordan de ulike aminosyrene påvirker spredningen av eggporsjoner vist i figur 3. 10. Jo mer høyere verdier (positiv eller negativ) en aminosyre har langs en akse, desto mer bidrar den til spredning av eggporsjonene langs den akse. Det var aminosyrene lysin, tyrosin, asparagin, serin og leucin som i størst grad bidro til spredning mellom eggporsjoner. Analysene er utført med normaliserte data (konsentrasjonsforskjeller er utjevnet).



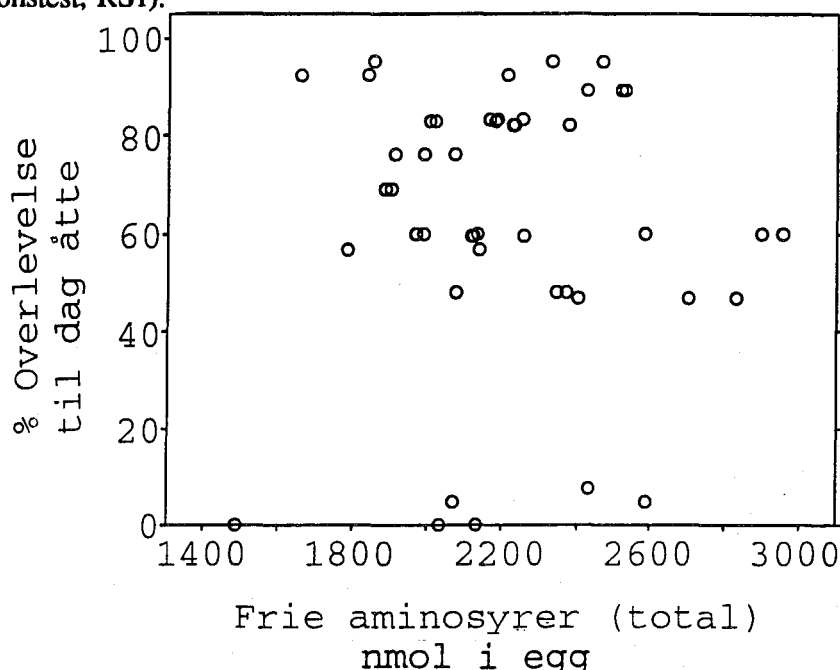


Figur 3.10. Scoreplott som viser spredning av eggpsjoner fra fire fisk i et flerdimensjonalt plan. Posisjonen til hvert punkt er bestemt ut fra 18 analyserte frie aminosyrer. Hver eggpsjon er representert med resultater fra tre enkeltegg, hvor bokstaven refererer til fisk og tallet viser til eggpsjonnummer. Prinsipalkomponent 1 og 2 (Component 1 og 2) viser prosent variasjon mellom eggpsjoner på bakgrunn av innhold av frie aminosyrer.



Figur 3.11. Loading plott som viser hvilke av de frie aminosyrene som bidrar til forskjeller mellom eggpsjoner fra fire fisk som vist i figur 3.10. Hver aminosyre representerer resultater fra tre enkeltegg.

Det ble ikke funnet signifikant sammenheng mellom totalt innhold av frie aminosyrer og overlevelse til dag åtte i eggporsjoner fra fire fisk ( $P = 0,867$ ), (Fig. 3.12.). Signifikansnivået ble ikke bedret ved å trekke ut eggporsjoner med 0 % overlevelse fra analysen. Det var ikke sammenheng mellom innhold av enkelt aminosyrer og overlevelse til dag åtte (Multippel regresjonstest, RS1).



Figur 3.12. Korrelasjon mellom totalinnhold av frie aminosyrer og prosent overlevelse til dag åtte i eggporsjoner fra fire fisker. Data for analyse av tre enkeltegg er vist, antall punkt er 48.

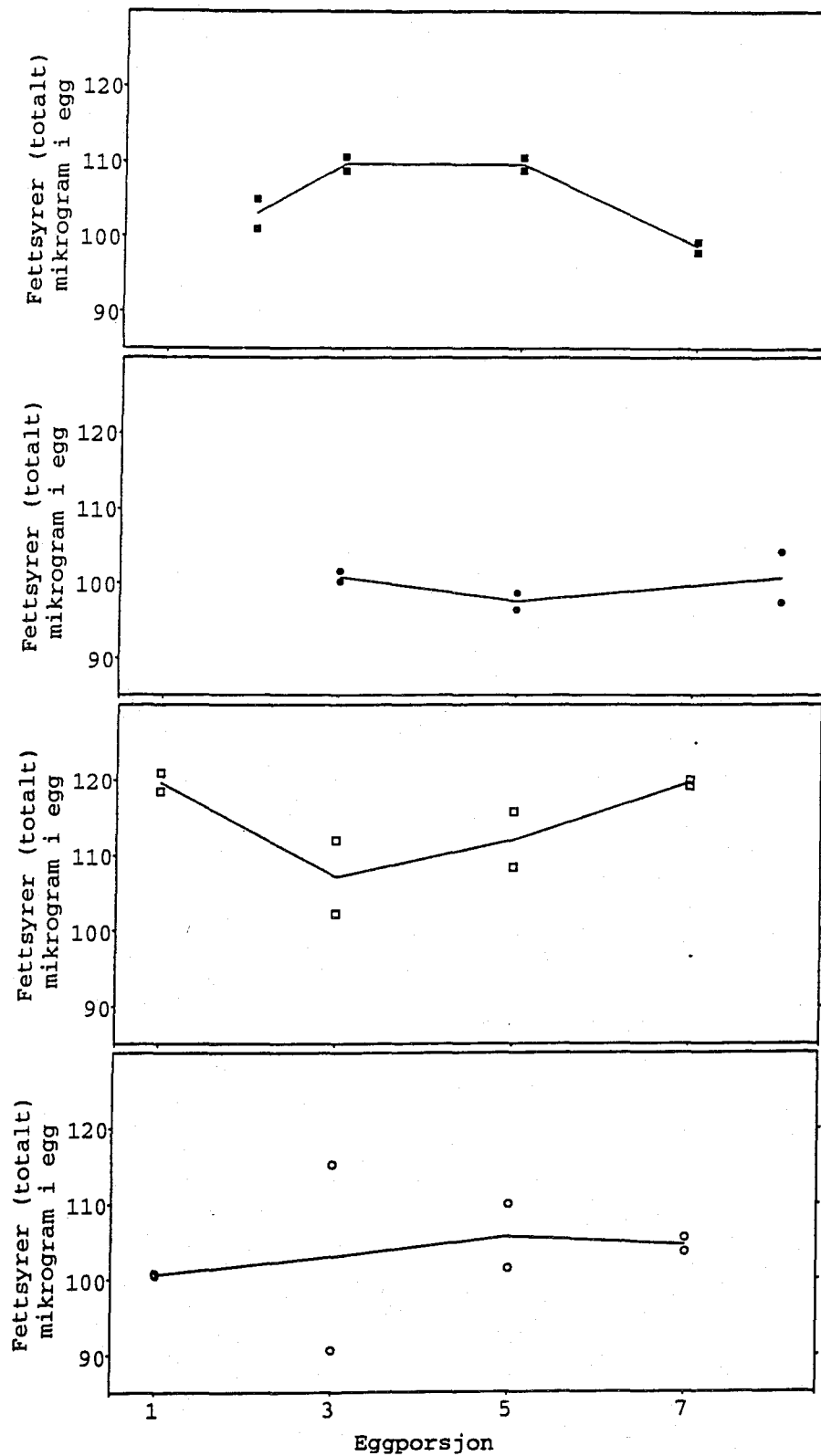
### 3.6. Fettsyrer i totalt lipid

Gjennomsnittlig totalinnhold av fettsyrer i egg fra forsøksfiskene gjennom deres gyteperiode er vist i tabell 3.5.

Tabell 3.5. Gjennomsnittlig totalinnhold av fettsyrer i egg fra fisk A, B, C og D gjennom gyteperioden. Gjennomsnitt ( $\bar{x}$ )- og standardavvik (s) er oppgitt i  $\mu\text{g}$  per egg. Fiskene er vist i rekkefølge etter økende størrelse.

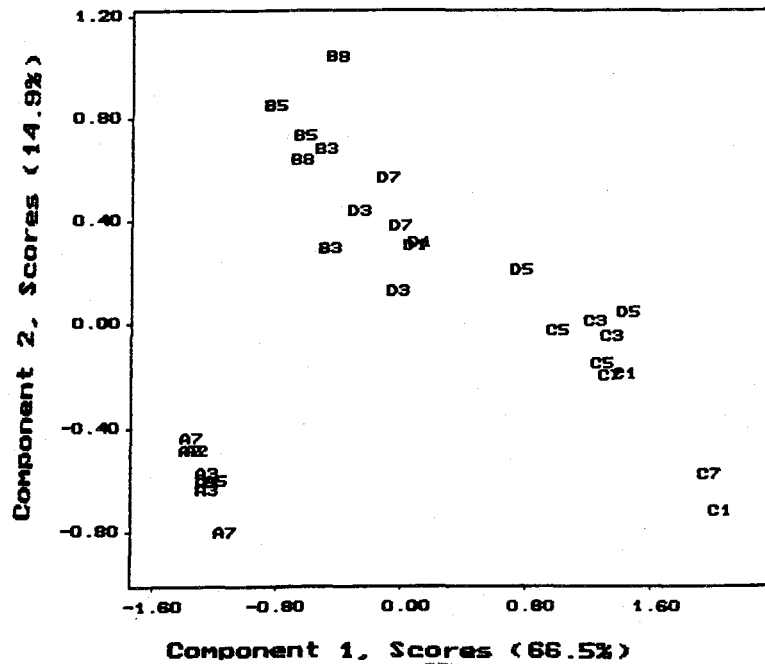
Fisk	$\bar{x}$	s
A	105,2	5,4
B	99,7	1,9
C	114,6	6,2
D	103,5	2,2

Totalinnhold av fettsyrer i eggporsjoner fra fire fisk er vist i figur 3.13. Eggporsjoner fra fisk C hadde et signifikant høyere totalt fettsyreinnhold enn eggporsjoner fra fisk A, B og D. Fettsyreinnhold fra fisk A, B og D var ikke signifikant forskjellige.

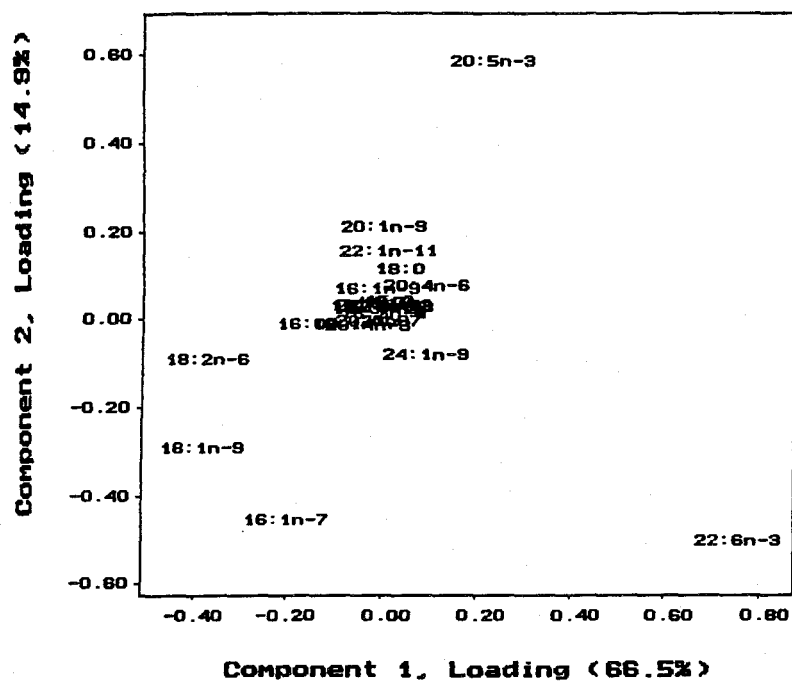


Figur 3.13. Totalinnhold av fettsyrer ( $\mu\text{g}$ ) i eggporsjoner gjennom gyteseperioden til fisk A (■), B (●), C (□) og D (○). Hvert punkt er gjennomsnitt av 25 egg. Heltrukne linjer viser gjennomsnitt av to parallelle målinger.

Det ble funnet en gruppering av fiskene i en multivariat modell på grunnlag av innhold av enkeltfettsyrer (Fig. 3.14.). Det ble funnet størst avstand mellom eggposjoner fra fisk A og C på den horisontale akse. Innholdet av enkeltfettsyrer i de ulike eggposjonene utgjorde 81,4 % av den totale variasjonen. Jo høyere verdier (positiv eller negativ) en fettsyre har langs en akse, desto mer bidrar den til spredning av eggposjonene langs den aksene. Figur 3.15. viser at det var fettsyrene 22:6 n-3, 20:5 n-3, 18:1 n-9, 18:2 n-6 og 16:1 n-9 som bidro til størst variasjon mellom eggposjoner fra fiskene i figur 3.14. Spredningen langs den horisontale akse bidrar med 66,5 % av den totale variasjon, mens spredning langs den vertikale akse forklarer 14,9 % av den totale variasjon. Modellene er basert på normaliserte data, dvs. at størrelsesforskjeller mellom de ulike fettsyrene er utjevnet.



Figur 3.14. Scoreplot som viser hvordan eggposjoner fra de fire fiskene grupperes. Fiskene er identifisert med bokstaver: A, B, C og D, mens eggposjonnummer er vist med tall. Plassering av hvert punkt er beregnet på bakgrunn av innhold av enkeltfettsyrer.



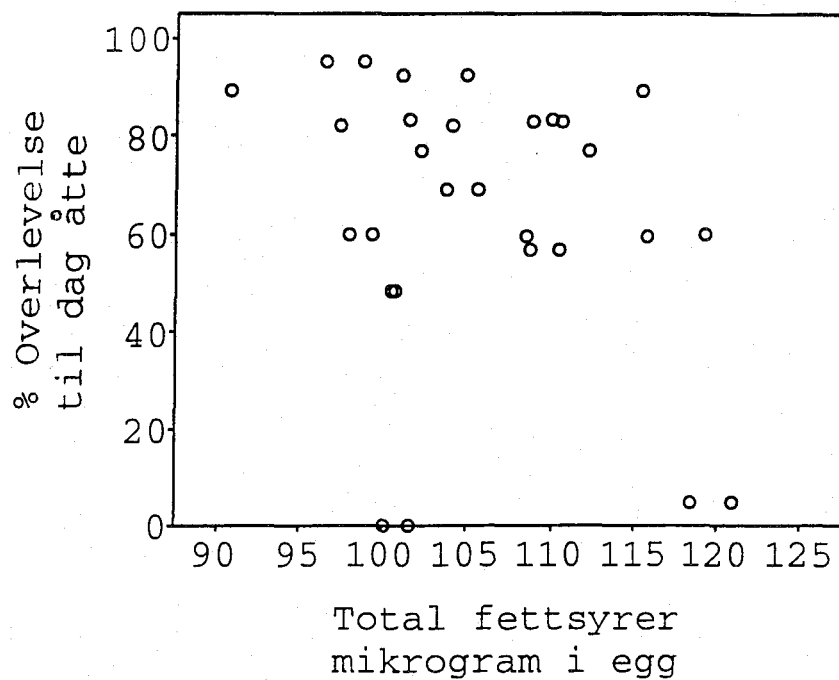
Figur 3.15. Loadingplott som viser hvilke fettsyrer som bidrar med størst spredning mellom fisk og eggporsjon. Hver fettsyrer representerer to parallelle analyseresultat.

De flerumettede fettsyrene n-3 PUFA utgjorde høyest prosentandel av fettsyrene på vektbasis, fulgt av mettede- og monoumettede fettsyrer (Tab. 3.6.). Av n-3 PUFA var det høyest innhold av 22 : 6 (n-3) fulgt av 20 : 5 (n-3) (se vedlegg B.). Innhold av flerumettede-, monoumettede- og mettede fettsyrer på vektbasis var stabil gjennom sesongen for hver av forsøksfiskene (Vedlegg B, tab. B3 og B4.).

Tabell 3.6. Gjennomsnittlig innhold av mettede-, monoumettede (mono-um.)- og flerumettede (fler-um.) fettsyrer, samt n-3 og n-6 PUFA (relative mengder) og prosent fettsyrer av tørrvekt (% av tvkt.). Verdiene er gjennomsnitt ( $\bar{x}$ ) av alle analyserte eggporsjoner gjennom gyteperioden til de fire kveitene. Standardavvik (s) er vist.

	Fisk							
	A		B		C		D	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Mettede	26,36	0,06	26,07	0,53	26,22	0,06	25,92	1,35
Mono-um.	21,47	0,10	20,54	0,37	19,92	0,22	19,70	0,98
Fler-um.	52,06	0,12	52,52	0,71	52,02	0,55	51,69	1,73
n-3 PUFA	47,32	0,09	47,85	0,53	49,99	0,55	47,69	1,55
n-6 PUFA	4,65	0,11	4,56	0,21	3,93	0,11	3,91	0,21
n-3 : n-6	10,18	0,25	10,51	0,38	12,72	0,36	12,21	0,41
% av tvkt.	7,42	0,54	7,47	0,85	8,02	0,44	7,04	0,33

Det ble ikke funnet signifikant sammenheng mellom totalinnhold av fettsyrer prosent overlevelse til dag åtte ( $P = 0,122$ ), (Fig. 3.16.). Signifikansnivået ble ikke bedret ved å fjerne eggporsjoner med 0 % overlevelse. Overlevelse av egg hadde ikke signifikant sammenheng med prosentinnhold av mettede-, monoumettede-, flerumettede fettsyrer eller n-3 PUFA.



Figur 3.16. Totalinnhold av fettsyrer ( $\mu\text{g}$  pr egg) korrelert mot prosent overlevelse til dag åtte. Antall punkt er 30.

### 3.7. Eggstørrelse

#### Eggdiameter

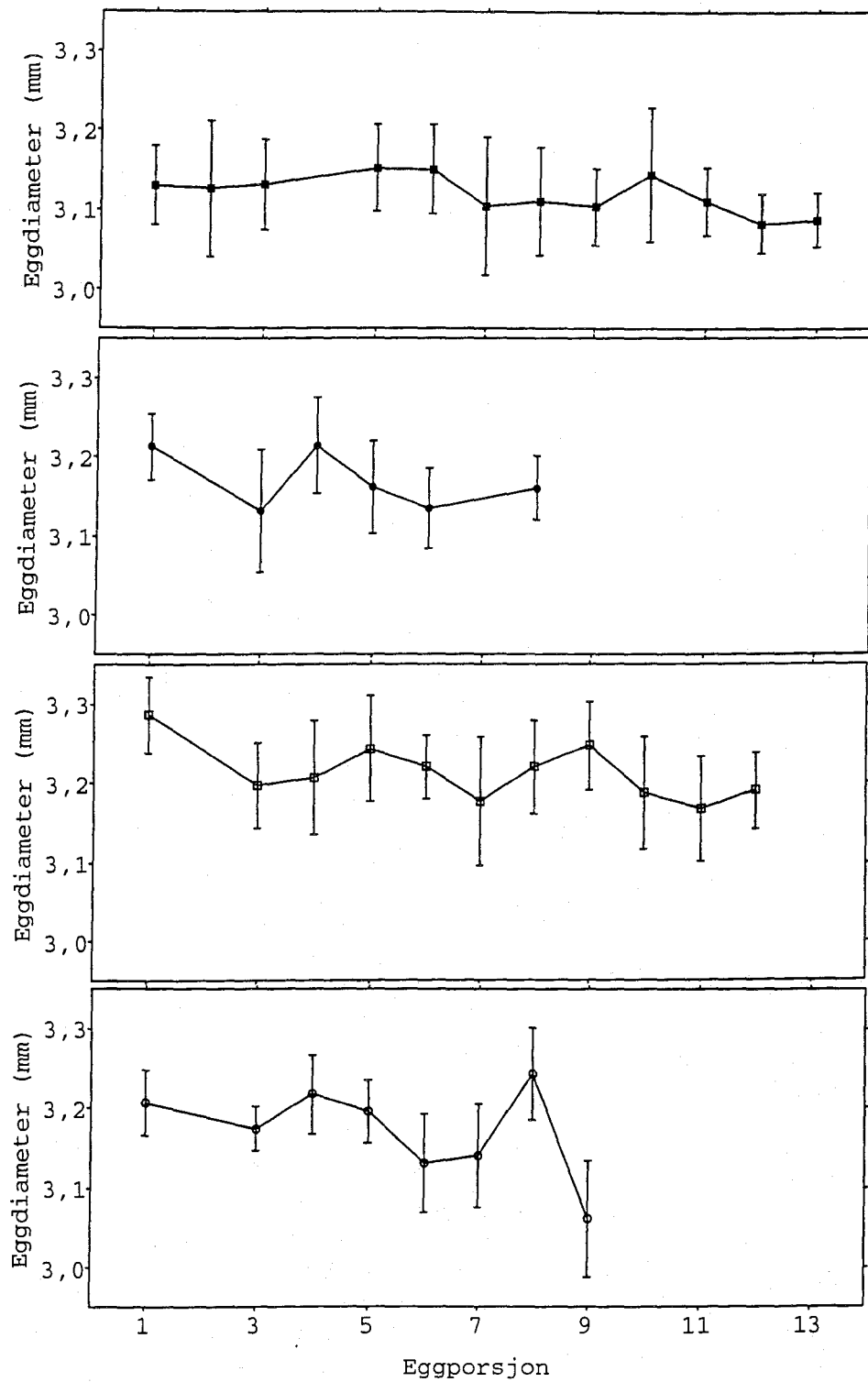
Gjennomsnittsdiameter på egg fra fiskene A, B, C og D er vist i tabell 3.7.

Tabell 3.7. Gjennomsnitt diameter ( $\bar{x}$ ) og standardavvik (s) på egg fra kveitene A, B, C, D. Verdiene er gitt i mm. Fiskene A, B, C og D er vist i rekkefølge etter økende størrelse.

Fisk	$\bar{x}$	s
A	3,13	0,07
B	3,18	0,06
C	3,22	0,07
D	3,17	0,08

Figur 3.17. viser eggdiameter i eggporsjoner fra fiskenes gyteperiode.

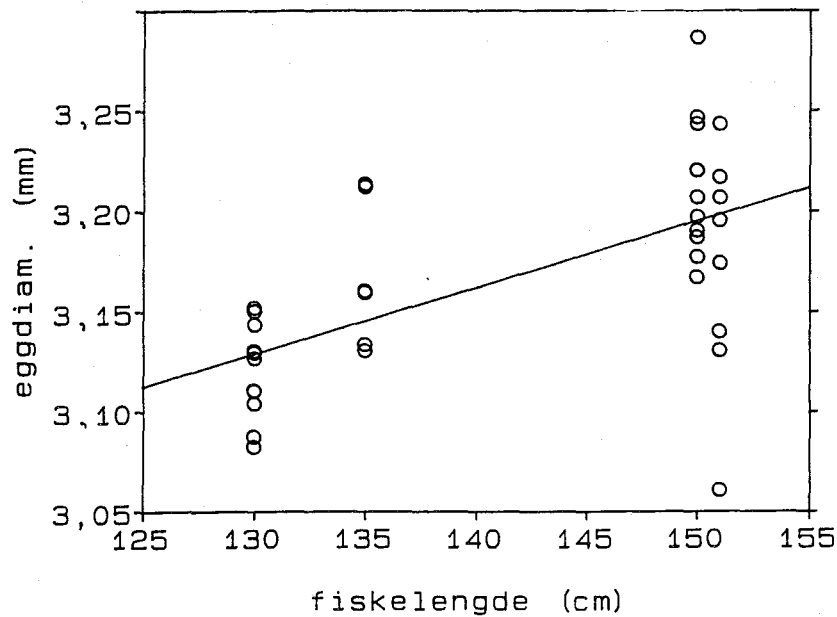
Diameter på egg fra fisk C var signifikant høyere enn egg strøket fra fisk A, B, D ( $P < 0,05$ , SNK). Eggdiameter i eggporsjoner fra fisk B var signifikant høyere en egg fra fisk A ( $P < 0,05$ , SNK).



Figur 3.17. Eggdiameter i eggporsjoner gjennom gytesesongen til fisk A (■), B (•), C (□) og D (○). Hvert punkt er gjennomsnitt av 25 egg og standardavvik er avmerket.

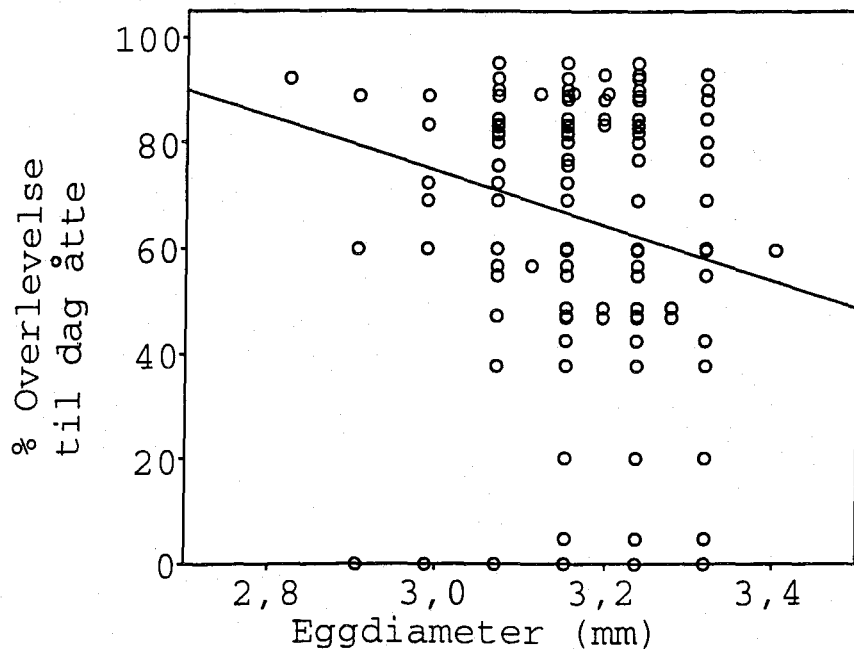


Det ble funnet en svak, men signifikant sammenheng mellom gjennomsnittlig eggdiаметer fra alle eggposjoner og fiskestørrelse ( $P < 0,01$ ,  $r^2 = 0,37$ ), (Fig. 3.18.).



Figur 3.18. Korrelasjon mellom eggdiаметer i ulike eggposjoner og fiskelengde. Hvert punkt er gjennomsnittsdiameter for en eggposjon. Ligningen for regresjonslinjen er:  $3,31 e^{-03} * X + 2,70$ . Antall punkt er = 37.

Det ble funnet svak, men signifikant sammenheng mellom eggdiаметer og overlevelse for forsøksfiskene ( $P < 0,01$ ,  $r^2 = < 0,10$ ), (Fig. 3.19.). Verdien til  $r^2$  ble ikke høyere enn 0,10, da eggposjoner med 0% overlevelse til dag åtte ble trukket ut av korrelasjonen.



Figur 3.19. Korrelasjon mellom eggdiаметer i eggposjoner fra fire kveiter og prosent overlevelse til dag åtte for forsøksfiskene. Totaldata for eggdiаметer er brukt,  $n = 875$ . Ligningen for regresjonslinjen er:  $-51,70 * X + 76,10$ .

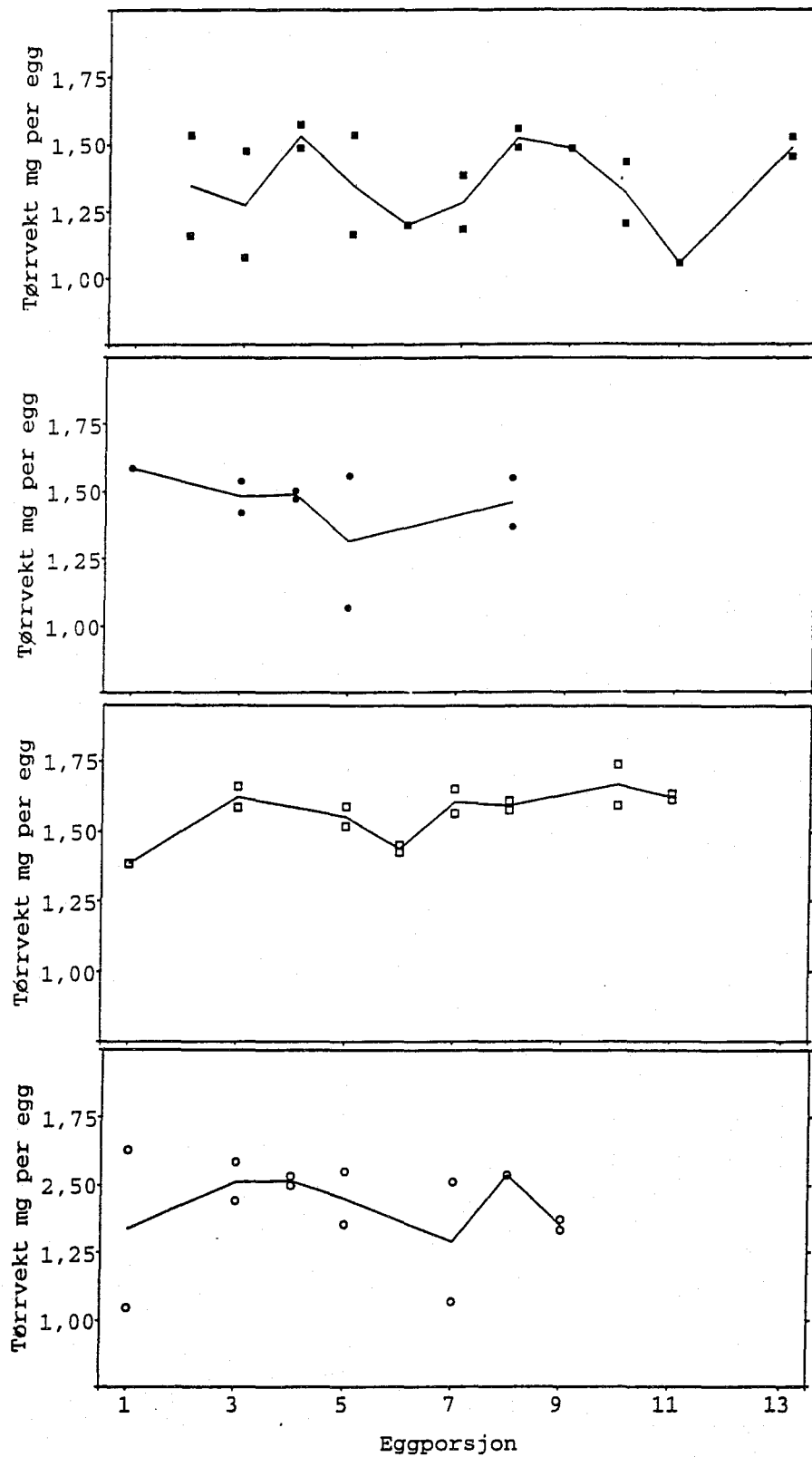
## Tørrvekt

Gjennomsnittlig egg tørrvekt i eggporsjoner fra de fire fiskene er vist i tabell 3.8.

Tabell 3.8. Tørrvekt av ubefruktede egg fra eggporsjoner til kveitene A, B, C og D gjennom gytesesongen. Fiskene er vist i rekkefølge etter økende størrelse, og verdiene er oppgitt i mg. som gjennomsnitt ( $\bar{x}$ ) med standardavvik ( $s$ ).

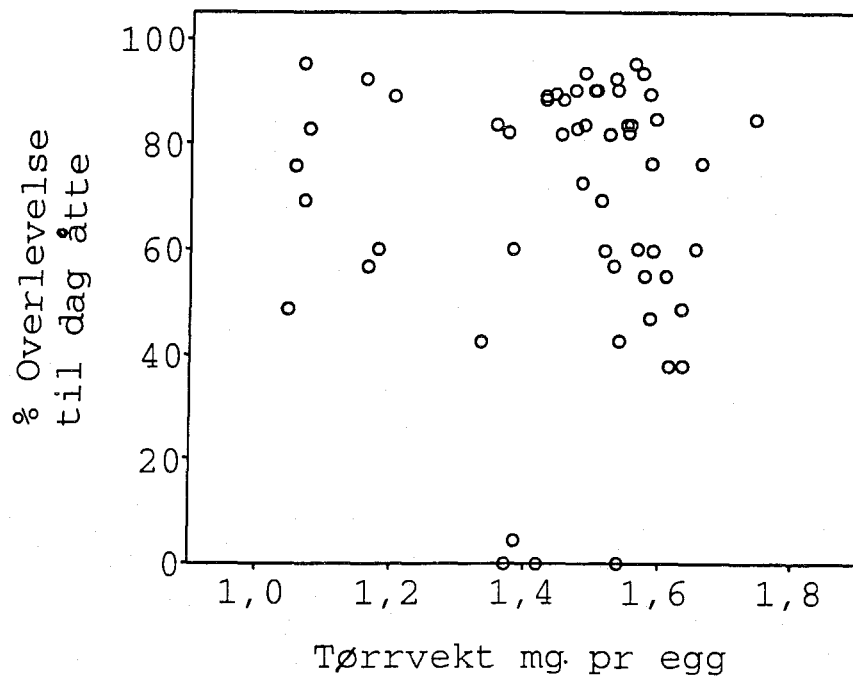
Fisk	$\bar{x}$	$s$
A	1,37	0,17
B	1,45	0,16
C	1,57	0,09
D	1,42	0,18

Tørrvekt av egg fra de ulike porsjoner i fiskenes gyteperiode er vist i figur 3.20. Fisk C gav egg med signifikant høyere tørrvekt enn egg fra fisk A ( $P < 0,05$ , SNK).



Figur 3.20. Tørrvekt av ubefruktede egg fra eggporsjoner i gyteperiodene til fisk A (■), B (•), C (□) og D (○). De ulike symbolene for hver porsjon er parallelle målinger som hver er gjennomsnitt av 25 egg. De heltrukne linjene er gjennomsnitt av de to parallelle målingene.

Det ble ikke funnet signifikant sammenheng mellom eggtørvekt og prosent overlevelse til dag åtte, ( $P = 0,876$ ), (Fig.3.21.). Signifikansnivået ble ikke bedret ved å trekke eggporjoner med 0% overlevelse til dag åtte ut av korrelasjonen.



Figur 3.21. Eggtørvekt korrelert mot prosent overlevelse til dag åtte. Begge parallelle prøver er brukt, slik at antall punkt er 55.

---

## Kapittel 4

### Diskusjon

#### 4.1. Diskusjon av materiale og metoder

##### 4.1.1. Forsøksoppsettet

Det ble brukt egg fra fire fire kveiter i oppgaven. Et lite antall fisk var nødvendig for å følge opp fiskenes ovulasjonsintervall. Flere fisk i samme kar ville ha ført til økt aktivitet rundt stamfisken som skulle forstyrres minst mulig. Av praktiske hensyn er det en fordel at eggnes kvalitet bestemmes så raskt som mulig etter gyting. Dette vil være arbeids- og plassbesparende både i egg- og plommesekkfasen. Det ble derfor tatt prøver av alle strøkne ubefruktede eggporsjoner gjennom gyteperioden til de fire fiskene.

##### 4.1.2. Stamfisk

Kveitene hadde ved forsøksstart levd i minimum tre år under like miljøforhold. Fiskene hadde fått likt fôr og var alle i god kondisjon. Fiskene hadde gytt i flere sesonger før dette forsøket startet. Fiskene regnes derfor for å ha tilpasset seg forholdene i fangeskap.

Kveitene var fanget på Møre-kysten og i Bjørnefjorden. Fevolden og Haug (1988) hevder at det ikke er genetiske forskjeller mellom kveiter fanget ved Færøyene, Grønland eller langs Norskekysten. Dette indikerer at det kan være mangel på genetisk differensiering også mellom forsøkskveitene.

Fiskenes størrelse varierte mellom 130 - 151 cm og veide anslagsvis 25 - 60 kg (Norberg *et al.* 1991). Haug & Tjemsland (1986) fant at hunnkveiter mellom 140 og ca. 150 cm var mellom åtte og elleve år gamle. To av forsøkskveitene var kjønnsmodne da de ble fanget, mens de andre to ble kjønnsmodne og begynte å gyte i fangeskap. I farvannene i Nord-Norge ble det funnet at 50 % av kveitene var kjønnsmodne når de var sju år. Forsøkskveitene er av forskjellig lengde, og har sannsynligvis også ulik alder. Stamfiskens alder kan ha effekt på eggnes størrelse hos torsk (Kjesbu 1989), biokjemiske sammensetning (Watanabe 1985) og hvor mye frie aminosyrer som akkumuleres i overmodne egg (Zhukinskiy & Kim 1981). En slik effekt kan derfor ikke utelukkes i kveite.

Forsøksfiskene ble benyttet som stamfisk ved Havbruksstasjonen Austevoll i gytessesongen

---

1989, og var valgt ut på grunnlag av stor eggproduksjon og høy befruktningsprosent året før. Resultatene fra mitt forsøk viser at på tross av at fiskene i utgangspunktet var regnet for å være gode stamfisk, varierte overlevelsen mellom eggporsjoner gjennom gyteperioden. Eggmaterialet har dermed en fordeling som er nødvendig for å undersøke eggkvalitet.

#### 4.1.3. Stamfiskmiljø

Forsøksfiskene har levd under like temperatur- og salinitetsforhold. Sjøvann ble pumpet opp fra 55 m dyp. Temperaturen varierte mellom 5 - 10 °C gjennom året, og 6,2 - 7,5 °C i gytesesongen (Fig. 2.1.) Saliniteten var tilnærmet stabil på 34 ppt. Temperatur og salinitet i oppdrett var tilnærmet likt det naturlige miljø, hvor kveitene gyter ved 5 - 7 °C og 34,5 - 35 ppt. saltholdighet.

Bunnssubstratet i stamfiskbassenget er en annen miljøfaktor som kan bety mye for kveitenes tilpassing til en oppdrettssituasjon. På Austevoll Havbruksstasjon benyttes avrundet elvegrus som bunnssubstrat i karet. I naturen er det vist at gyting foregår på sand- og leirebunn (Kjørsvik *et al.* 1987). Sand og leire ble ikke brukt som substrat i stamfiskbassenget fordi dette er vanskelig å gjøre rent for fôrrester og ekskrementer. Det ble heller ikke gjort forsøk på naturlig gyting i disse systemene.

I naturen stimuleres fiskenes reproduksjon av ulike miljøfaktorer bl.a. lys (Se fig. 1.2.). Under naturlige forhold er det viktig at kveitene gyter i perioden desember til april, slik at larvene er klare til startfôring når plante- og dyreplanktonproduksjonen er høy. Stamfiskbassenget på Austevoll Havbruksstasjon var dekket med presenning for å unngå for sterk belysning. Naturlig lys ble tilført kveitene gjennom karvegger og gjennom små åpninger i presenningen. Ved stryking ble det om nødvendig benyttet svak kunstig belysning. Kveitene har dermed fulgt den naturlige variasjonen i daglengde og lysintensitet, som er nødvendig for å stimulere fiskene til å gyte i sesongen.

De fire hunnkveitene gikk i samme kar som de tre hannfiskene vi benyttet ved befruktning av eggene. Dette har gjort det mulig for kveitene å danne et interaksjonsmønster på grunnlag av adferd og utskillelse av feromoner. Aggressiv adferd ble ikke registrert på noen av forsøksfiskene.

Fôrtilbudet var likt for forsøksfiskene fram til gytesesongen startet. Kveitene spiste ikke i gytesesongen, noe som også er observert i tidligere gytesesonger ved Havbruksstasjonen (H. Rabben; B. Norberg, pers. medd.) og i andre stamfiskbestander (I. Holmeford, pers. medd.). Sild, lodde og akkar ble brukt som fôr. Disse artene inngår i kveitenes fødevalg i naturen (Pethon 1985). Tocher & Sargent (1984) fant at stamfiskens diett påvirket innhold av fettsyrer i egg fra marin fisk. I følge røkter ved Austevoll Havbruksstasjon, spiste kveitene tilnærmet

like mye før. Det er vist at egg fra torsk som hadde fått ulike førmengder ikke hadde forskjellig befruktningsprosent (Kjesbu 1989). Ettersom forsøksfiskene har fått like førbetingelser, antar vi at dette ikke fører til forskjeller i eggens osmolalitet, biokjemiske innhold, størrelse og overlevelse. Ulike fôrtyper til stamfisk kan imidlertid bidra til å forklare forskjeller mellom egg når ulike forsøk sammenlignes.

#### 4.1.4. Stress

For å finne kveitenes ovulasjonsintervall var det i perioder nødvendig å håndtere kveitene hyppig. Håndtering og stryking er en stress-situasjon for fisk som kan ha en negativ effekt på sluttmodning og ovulering av oocytter, fekunditet og gamet-kvalitet (Billard *et al.* 1981). Carragher *et al.* (1989) fant at kronisk forhøyet nivå av stresshormonet kortisol i plasma hos brunørret hemmet nivået av estradiol-17 $\beta$  og tyroidhormoner. Estradiol-17 $\beta$  stimulerer produksjon av VTG (Wallace 1985) og ZrP (Oppen-Berntsen *et al.* 1990). Methven *et al.* (i trykk) har vist at nivået av estradiol-17 $\beta$  og VTG i blodplasma hos hunnkveite øker fram mot gytesesongen, og synker brått ved ovulasjon av første eggporsjon. Plasmanivået av estradiol-17 $\beta$  og VTG fluktuerer deretter gjennom gytesesongen, sannsynligvis samtidig med beregnet ovulasjonstidspunkt (Methven *et al.* (i trykk)). Stress kan derved ha en effekt på inkorporering av VTG og ZrP i oocytter, eggets biokjemiske sammensetning og størrelse gjennom hele fiskenes gyteperiode. Langtidsstress av gytemoden rød havbrasme (*Pagrus auratus*) førte til at ovulering og gyting stoppet, mens graden av atresia økte (Carragher & Pankhurst 1991). Kjesbu (1989) hevder at uregelmessige gyteintervall hos torsk skyldes stress.

Befruktningsprosent og prosent overlevelse til dag åtte varierte gjennom sesongen. To av kveitene hadde uregelmessig ovulasjonsintervall mot slutten av gytesesongen. Dette kan være en respons på gjentatt håndtering gjennom gyteperioden, men klare effekter av stress ble ikke påvist.

#### 4.1.5. Prøvetaking

For å forbedre tidligere brukte strykemetoder forsøkte vi å finne kveitenes ovulasjonsintervall. Kveitene fikk grundig oppfølging i starten på gyteperioden inntil vi hadde funnet ovulasjonsintervallet. Deretter ble fiskene sjekket ved forventet ovulasjonstidspunkt.

I marine porsjonsgytere ovuleres ikke alle oocytterne samtidig i en eggporsjon (Craik & Harvey 1984). Små mengder ovulerte egg slippes sannsynligvis porsjonsvis inn i ovarielumen der eggene oppbevares inntil hele eggporsjonen er ovulert. Det ideelle stryketidspunkt vil da trolig være når hele eggporsjonen er samlet i ovarielumen. I våre strykerutiner var det sjelden nødvendig å stryke kveiten over gonadene for å få egg, ettersom eggene rant lett ut av

gonadeåpningen. Dette tyder på at stryketidspunktet var gunstig i forhold til ovulasjon. Vi fant imidlertid innslag av overmodne egg også i nylig ovulerte eggporsjoner. Dette kan være rester fra forrige eggporsjon, noe som også er beskrevet i Kjørsvik *et al.* (1990). Holmefjord (pers. medd.) hevder at kveite-egg er overmodne innen ni timer etter ovulasjon, mens Bromage *et al.* (1991) fikk optimal befruktningsprosent når kveite-egg ble strøket og befruktet fire til seks timer rundt ovulasjonstidspunkt. Overmodning førte til lav klekkeprosent av kveite-egg (Holmefjord (1991) og deformerte larver hos sábalo (*Prochilodus platensis*) (Fortuny *et al.* 1988). Pittman *et al.* (1990) antyder at overmodning gir deformiteter på kveitelarver.

Holmefjord (1991) fant at egg som bevisst ble strøket før forventet ovulasjonstidspunkt, hadde lavere klekkeprosent enn egg fra samme porsjon som ble strøket ved beregnet ovulasjonstidspunkt. Eggene som ble strøket for tidlig må ha vært ovulert, ettersom det er lite sannsynlig at sperm kan befrukte en oocytte omgitt av follikkelceller. Dersom Holmefjord (1991) har beregnet et riktig ovulasjonstidspunkt, ser det derfor ut til at eggene gjennomgår en ytterligere modningsprosess etter ovulering. Dette indikerer at et gunstig stryketidspunkt er en tid etter eggene er ovulert.

Ubefruktede egg fra alle eggporsjoner ble valgt ut tilfeldig fra bøtten hvor alle nystrøkne egg ble oppbevart. Egg til måling av diameter og befruktningsprosent ble tatt ut tilfeldig fra den samme bøtten etter befruktning. Uttaket regnes derfor som representativt for den enkelte eggporsjon. Ved å bruke ubefruktede egg utelukkes effekter av miljø og melke kvalitet på eggkvaliteten på dette stadium.

Når kveite-egg utsettes for lys, synker de i vannkolonnen (Rabben & Jelmert 1986). Lyspåvirking utsetter også klekkeprosessen i kveite-egg (Rabben & Jelmert 1986; Helvik 1988). Det ble derfor valgt å skjerme nystrøkne eggporsjoner mot lys under transporten fra stamfiskbassenget til klimarommet hvor prøvene ble tatt. Det ble kun benyttet svak belysning både under prøvetaking og ved røkting av inkubatorene i klekkeriet. Valkner (upublis.) fant imidlertid at eggenes oppdrift ble påvirket først ved slutten av epiboli. Dette kan tyde på at eggene ikke har utviklet en mekanisme for å regulere oppdriften før plommesekken er tilnærmet ferdig omvokst. Man kan dermed anta at lys ikke har hatt en effekt på innholdet av ulike komponenter i de ubefruktede eggene. Helvik & Pittman (1990) har vist at en viss lysstimulering i plommesekkfasen er nødvendig for at kveitelarvenes øyne skal pigmenteres, noe som tyder på at lysstimuli blir viktigere senere i kveitens utvikling.

Det ble tatt blodprøver av fiskene ved stryking, opptil to ganger i løpet av fiskenes gyteperiode. Årsaken til at det ikke ble analysert flere prøver, er at det var problemer med å få tatt blodprøver av fisken ved stryking.



#### 4.1.6. Befruktning

Hver eggporsjon ble befruktet med melke fra to (av tre mulige) hannfisk. Dette ble brukt som standard metode ved Austevoll Havbruksstasjon. Hensikten med dette var å sikre at eggene ble befruktet dersom en av hannkveitene var steril eller hadde dårlig spermkvalitet. Ved å bruke melke fra to hannfisk har vi imidlertid dannet to søskengrupper i en eggporsjon dersom begge hannfiskene var fertile. Metoden innebærer også en risiko for at befruktningsprosenten kan bli lavere enn optimalt for eggporsjonen hvis man bruker én hannfisk med god- og én med dårlig spermkvalitet. De tre hannfiskene som vi brukte gav imidlertid tilnærmet like høy befruktningsprosent (Tab. 2.2.), og ble vekselvis benyttet. Bruk av melke fra to hannfisker har her derfor sannsynligvis ikke hatt negative effekter på befruktningsprosenten. Methven & Crim (1991) viste at sperm-motiliteten var best tidlig i hannfiskenes gyteperiode og avtok markert mot slutten. Vårt befruktningsforsøk ble utført midtveis i gytasesongen. Det var imidlertid ingenting som tydet på at hannfiskenes spermkvalitet avtok mot slutten av gytasesongen ettersom befruktningsprosenten var høy (Fig. 3.2.)

#### 4.1.7. Overlevelse

I denne oppgaven er overlevelse av egg fra stryking til dag åtte brukt som et objektivt mål på eggkvalitet. Før endt epiboli (dag 8) er egget ømfindlig overfor mekanisk stress, og dødeligheten er høy (Holmefjord & Bolla 1988; Opstad 1990). Mekanisk stress gitt etter epiboli og fram til klekking gav minimal dødelighet (Holmefjord & Bolla 1988; Opstad 1990) eller redusert klekkeprosent (Holmefjord & Bolla 1988). I litteraturen er befruktningsprosent, celledelingssymmetri, klekkeprosent og andel overlevende larver til senere utviklingsstadier brukt som mål på eggkvalitet (Se Kjørsvik *et al.* 1990). Befruktningprosent og celledelingssymmetri kan være nyttige parametre for å beskrive eggkvalitet, men gir mangelfull informasjon om overlevelse på senere stadier. I klekkefasen er det rapportert økende dødelighet med økt stress (Opstad 1990). Dersom miljøforholdene ikke er optimale kan nyklekkede larver dø raskt, og klekkeprosenten vil dermed gi feil informasjon. Ved å bruke overlevelse til senere utviklingsstadier vil larvens overlevelsespotensiale sannsynligvis være dominert av miljøeffekter. Overlevelse fram til dag åtte antas derfor å være et gunstig objektivt mål for eggkvalitet. Det gir opplysninger om overlevelse til etter et kritisk punkt i eggfasen, og samtidig unngår man miljøeffekter som sannsynligvis får større betydning for overlevelse og deformiteter senere i utviklingen.

De eggene som ikke befruktet i en eggporsjon, vil holde seg flytende på lik linje med befruktete egg, i en tid etter befruktning. Det er derfor ikke mulig å fjerne ubefruktete egg fra en eggporsjon før eggene inkuberes. Volum befruktete egg var dermed ikke mulig å måle.

Overlevelse til dag åtte er derfor brukt i korrelasjoner med eggens osmolalitet, biokjemiske innhold og eggstørrelse, og inkluderer både egg som ikke er befruktet og egg som dør i eggfasen.

Det ble funnet høyere prosent overlevelse etter befruktning enn befruktningsprosent i enkelte eggporsjoner fra fisk A, B, og D. Dette kan skyldes at befruktningsprosent var feilestimert, eller at dødeligheten gjennom eggfasen ikke var helt nøyaktig målt.

Alle eggporsjoner har hatt tilnærmet homogene miljøbetingelser og fått lik behandling fra stryking fram til og med dag åtte. Ulik overlevelse fra stryking til dag 8 mellom eggporsjoner, kan derfor ikke forklares med miljøeffekter.

#### *4.1.8. Effekter av lagring*

Egg til osmolalitet, tørrvekt og aminosyreanalyser ble frosset inn ved  $-18^{\circ}\text{C}$  i tette cryo- og eppendorfrør. Lagringen har derfor sannsynligvis ikke hatt betydning for osmolalitet eller tørrvekt. Prøver til analyse av frie aminosyrer ble lagret på tette prøverør. Resultatene tyder ikke på at lagring har en effekt på innhold av frie aminosyrer. Egg til fettanalyse ble lagret på tette glassrør i kloroform : metanol (2 : 1) tilsatt antioksydant. I følge Klungsøyr (pers.medd.) blir det sannsynligvis ikke forandringer i fettens sammensetning etter 5 måneder, når prøvene er tilsatt antioksydant.

#### *4.1.9. Metoder*

##### **Osmolalitet**

Osmolalitet er målt på supernatant fra 25 ubefruktede egg fra samme porsjon. De frosne eggene ble knust med ultralyd i det samme prøverøret de var frosset inn på. Det er dermed ikke tapt verken væske eller salter fra eggene. Verken sjøvann eller ferskvann har kommet i kontakt med de ubefruktede eggene, slik at prøvens osmotiske konsentrasjon er reell. Ubefruktede egg er derfor gunstig å bruke ved måling av osmolalitet.

Hver supernatant ble målt åtte ganger for å avdekke eventuelle måle- og instrumentvariasjoner (Fig. 3.6.)

### Frie aminosyrer

Frie aminosyrer ble ekstrahert i 1 N HNO<sub>3</sub>. Dette er en uorganisk syre, som gav rask og stabil ekstrahering av uorganiske ioner (Mangor-Jensen 1986). Det er imidlertid en oksyderende syre og kan ha hatt en effekt på ustabile aminosyrer, som tryptofan (H.J. Fyhn, Zoologisk laboratorum, Universitetet i Bergen, pers.medd.). Tryptofan var ustabil og ble derfor ikke tatt med under behandling av data. Resultatene mine er forøvrig i samsvar med Fyhn (1989) og Finn *et al.* (1991) som benyttet 6 % TCA (Tri-klor-eddiksyre) til ekstraksjon av frie aminosyrer i kveite-egg.

### Fettsyrer i totalt lipid

Fettsyrer i totalt lipid ble opparbeidet samlet på kjemisk laboratorium på Senter for Miljø, Havforskningsinstituttet. Metoden består av mange trinn, og det er derfor beregnet en samlet feilmargen på ca. 10 % samlet for opparbeiding og analyser (S. Wilhelmsen, pers. medd.). Avviket mellom paralleller i tredje eggporsjon fra fisk D (Fig. 3.13.) skyldes uhell under homogenisering av prøvene ved opparbeiding.

### Diameter

Eggdiameter ble målt på befruktede egg fordi måling av ubefruktede egg gav et lite pålitelig resultat. Ubefruktede egg var myke, og klistret seg sammen eller til underlaget. Dette gjorde at eggene fikk en uriktig fasong, og derved feil eggdiameter i forhold til den reelle verdi. Lønning *et al.* (1982) viste at det ikke var forskjell i eggdiameter mellom ubefruktede egg, nylig befruktede eller befruktede ved gastrulastadiet. De ubefruktede eggene beskrevet i Lønning *et al.* (1982) kan være aktivert, slik at eggstørrelsen allerede her hadde økt. Alle eggporsjoner er i oppgaven målt på tilnærmet samme utviklingsstadium, slik at eventuelle forskjeller mellom ubefruktede og befruktede egg ikke vil ha betydning for resultatet.

### Tørrvekt

To parallele porsjoner hver med 25 egg ble tørket etter en metode som beskrevet av Senstad (1984). De to parallellene er tørket og veid med ca. én måneds mellomrom. Det er tildels store avvik mellom parallellene (Fig. 3.20). Avvikene kan skyldes at eggene ikke var avkjølt likt før veiing. Varme, tørkede egg er svært hydrokroskopiske og tar raskt opp fuktighet fra luften.

---

## 4.2. Diskusjon av resultater

### 4.2.1. Ovulasjonsintervall og eggproduksjon

Kveitenes ovulasjonsintervall varierte mellom 73 og 80 timer (Tab.3.1.). Dette er i samsvar med andre observasjoner av kveite (I. Holmefjord pers.medd; Rabben 1990), torsk (Kjesbu 1989; Kjesbu *et al.* 1989) og piggvar (McEwoy 1984; Howell & Scott 1988).

Ovulasjonsintervallet ble mer irregulært mot slutten av gyteperioden til fisk A og C, som hadde lengst gyteperiode (Fig. 3.1.). Prosent overlevelse var lavere i denne perioden hos fisk D, men ikke hos fisk A (Fig. 3.2.). Dette viser at effekter av irregulær gyting på eggens overlevelse ikke er entydig. Det ble imidlertid funnet høyere andel deformiteter på larver fra eggposjoner strøket i denne perioden (T. Harboe & A. Mangor-Jensen pers.medd.), som antyder at irregulær ovulasjon først vil bli framtreddende på senere utviklingsstadier. En oppfølging av ovulasjonsintervallet i 1989 resulterte i øket eggproduksjon og befruktningsprosent for de fire kveitene (Norberg *et al.* 1991). Dette viser betydningen av å finne fiskenes ovulasjonsintervall.

Det ble i noen tilfeller strøket mindre eggposjoner fra fisk A og C ved korte ovulasjonsintervall (Figur 3.1. og 3.4.). Tidligere erfaring viser at fiskenes eggproduksjon avtar mot slutten av gyteperioden (B. Norberg; H. Rabben pers. medd.). De mindre eggposjonene fra fisk D ble også strøket mot slutten av fiskens gyteperiode.

Det var ikke sammenheng mellom eggproduksjon og overlevelse til dag åtte (Fig.3.5.). Dette viser at eggens overlevelse ikke med sikkerhet kan vurderes ut fra størrelse på eggposjonen som strykes.

### 4.2.2. Overlevelse

Eggenes overlevelse fluktuerte gjennom sesongen (Fig. 3.2). To eggposjoner døde før dag åtte etter stryking. Andre posjon strøket fra fisk B døde tidlig i eggfasen på grunn av høy bakterievekst. Hele siste posjon fra fisk D var død på dag åtte. En korrelasjon mellom befruktningsprosent og overlevelse fra stryking til dag åtte viste signifikant sammenheng. Sammenhengen er her en naturlig konsekvens av at overlevelse til dag åtte omfatter ubefruktede egg. Dette viser imidlertid at befruktningsprosent kan brukes som indikator på eggens overlevelse på senere stadier.

Overlevelse mellom eggposjoner varierer til tross for oppfølging av fiskenes ovulasjonsintervall. Det ble funnet lav befruktningsprosent og overlevelse i flere eggposjoner

---

(Fig. 3.2.). Dette kan skyldes at enkelte eggporsjoner ble strøket for lang tid etter ovulasjon slik at eggene var blitt overmodne. Lav overlevelse av egg er satt i sammenheng med overmodning i japansk flyndre (*Limanda yokohamae*) (Hirose *et al.* 1978) trepigget stingsild (*Gasterosteus aculeatus* L., *trachurus*) (Lam *et al.* 1978) brasme og mort (Zhukinskiy & Kim 1981) malle (*Clarias macrocephalus*, Gunther) (Mollah & Tan 1983), piggvar (McEwoy 1984), og regnbueørret (Springate *et al.* 1984). Artikkene viser at overmodning er et utstrakt problem både i porsjonsgytende fisk og engangsgyttere. Varierende overlevelse kan også skyldes at viktige trinn i fiskens reproduksjonssyklus var hemmet dersom stamfiskene var stresset (Billard *et al.* (1981).

#### 4.2.3. Osmolalitet

Osmolalitet i ubefruktede kveite-egg i dette forsøket varierer mellom 351- og 362 mOsmol (Tab. 3.3.), og er i gjennomsnitt ca. 40 mOsmol lavere enn tidligere funnet på kveite-egg (Lønning *et al.* 1982). Ubefruktede pelagiske egg fra gapeflyndre (*Hippoglossoides platessoides limandoides*, Bloch) og torsk, inneholder henholdsvis 357 - og 342 mOsmol/kg (Lønning & Davenport 1980; Mangor-Jensen 1986), mens demersale ubefruktede egg fra rognkjeks inneholder ca. 360 mOsmol (Kjørsvik *et al.* 1984a).

Varierende osmolalitet mellom eggporsjoner kan skyldes forskjeller i eggenes modningsstadium ved stryking. Hypotesen grunner i observasjonen av porsjon 12 fra fisk A, som hadde høy osmolalitet (ca. 400 mOsmol, se fig. 3.6.), lav diameter (Fig. 3.17) og tørrvekt (Fig. 3.20). Porsjonen var liten (0,2 dl.), ble strøket ca. 12 timer etter siste eggporsjon (Fig. 3.4.). Resultatene tilsier at porsjonen var strøket for tidlig. Det var imidlertid ikke andre eggporsjoner som viste tilsvarende samvariasjon i parametre. Alderdice *et al.* (1979) fant varierende osmolalitet i egg fra Stillehavs-sild (*Clupea harengus pallasii*) og mente at årsaken var forskjeller i eggenes modningsstadium.

Osmolalitet var signifikant korrelert med totalt innhold av frie aminosyrer (Fig. 3.9.). Resultatet antyder at innholdet av frie aminosyrer er viktige osmolytter i egg. Dette er i samsvar med Riis-Westergaard (1987), Craik & Harvey (1987) og Thorsen *et al.* 1990).

Det var ikke sammenheng mellom eggporsjonenes osmolalitet og overlevelse til dag åtte (Fig. 3.7.). Kjørsvik & Lønning (1983) fant at befruktede torske-egg med høy befruktningsprosent hadde høyere osmolalitet enn egg med lav befruktningsprosent. De fant i samme forsøk ikke forskjellig osmolalitet mellom ubefruktede egg fra eggporsjoner med høy- eller lav befruktningsprosent. I et senere forsøk fant imidlertid Kjørsvik *et al.* (1984b) at torske-egg med lav befruktningsprosent og høy andel deformiteter på egg og larver, hadde høyere osmolalitet enn gode egg. Dette viser at sammenhengen mellom osmolalitet og eggenes

---

levedyktighet ikke er entydig.

Egg med høy osmolalitet har høy spesifikk tetthet. Høy tetthet gjør at egg mister oppdrift og synker hos torsk (Mangor-Jensen 1986) og kveite (Valkner upublis.). Kjørsvik (1990) har observert at kveite-egg med lav levedyktighet var tyngre enn gode egg. Valkner (upublis.) observerte imidlertid at både egg med høy og lav befruktningsprosent var tunge, mens egg med lav befruktningsprosent var mer spredt i vannkolonnen enn eggporsjoner med høy befruktningsprosent. Dette viser at osmolalitet i egg varierer slik at gitte verdier sannsynligvis ikke kan settes i sammenheng med dårlig eggkvalitet.

Det er samsvar mellom eggosmolalitet og plasmaosmolalitet hos kveite (Fig.3.6.), noe som også er funnet hos torsk (Sølemdal 1970; Davenport *et al.* 1981; Mangor-Jensen 1986) og rognkjeks (Kjørsvik *et al.* 1984a). I tre tilfeller ble det funnet maksimalt 26 mOsmol høyere osmolalitet i egg enn i plasma. Forskjellene er små, men viser at det her var en svak osmotisk gradient mellom egg og morfiskens plasma. Dette tyder på at egget fortsatt kunne ta opp væske. Dersom egg fortsetter å svulle etter ovulasjon, kan resultatet tyde på at egget ble strøket for tidlig.

#### 4.2.4. Frie aminosyrer

Gjennomsnittlig totalinnhold av frie aminosyrer i kveite-egg fra dette forsøket varierte mellom 1977 nmol og 2362 nmol (Tab. 3.4.). Resultatet er i samsvar med tidligere analyser av kveite-egg (Fyhn 1989; Finn 1989; Finn *et al.* 1991). Rødspette-egg (*Pleuronecta platessa*) inneholder 295 - 407 nmol frie aminosyrer, mens piggvar-egg inneholder i gjennomsnitt ca. 48 nmol per egg (Farestveit 1990). Nygytte torske-egg inneholder 260 - 290 nmol frie aminosyrer (Mårstøl *et al.* i trykk). Forskjeller i eggstørrelse mellom kveite-egg (ca. 3 mm) og egg fra rødspette (ca. 1,8 - 2,2 mm), torsk (ca. 1,2 - 1,5 mm) (Lønning *et al.* 1988) og piggvar (ca. 1,2 mm) (Farestveit 1989), bidrar til å forklare det ulike innholdet av frie aminosyrer. Finn *et al.* (1991) fant at innhold av frie aminosyrer i kveite-egg hadde sammenheng med eggstørrelse.

Gjennomsnitts-totalinnholdet av frie aminosyrer var forskjellig mellom ulike eggporsjoner (Fig.3.8.). Variasjon i totalinnhold av frie aminosyrer (10 - 70 nmol egg) er også funnet i egg fra piggvar (Farestveit 1990). Zhukinskiy & Kim (1981) fant at overmodning av egg fra brasme og mort førte til en opphopning av frie aminosyrer som følge av nedbryting av proteiner. Den første eggporsjonen fra fisk B har et høyt gjennomsnittsinhold av frie aminosyrer (Fig. 3.8.), men stryketidspunkt og befruktningsprosent og prosent overlevelse tyder ikke på at eggporsjonen var overmoden. Forskjellene i innhold av frie aminosyrer mellom eggporsjoner kunne ikke forklares med ulikt ovulasjonsintervall.

---

Det var høyest innhold av serin, leucin, lysin, alanin, glutamin og valin i kveite-egg (Vedlegg B, tab. B1 og B2.). Serin, leucin, lysin, alanin og glutamin ble også funnet å være dominerende i kveite-egg av Fyhn (1989) og Finn (1989). Tilsvarende resultat er også vist i egg fra piggvar og rødspette (Farestveit 1990), mens alanin, leucin, serin, isoleucin, lysin og valin dominerer i torske-egg (Fyhn & Serigstad 1987).

Multivariatanalysen (Fig. 3.10) viste ikke klare forskjeller mellom fiskene. Det ble imidlertid funnet at enkelte eggporsjoner grupperte seg klart fra de andre. Eggporsjon nr. 1, 3, 5 og 7 var plassert forskjellig for forsøksfiskene, som viser at det ikke var likheter mellom disse. Aminosyrene lysin, tyrosin, aspargin, serin og leucin bidro til å forklare 70,8 % av variasjonen mellom eggporsjonene (Fig. 3.11.). Årsaken til ulikt innhold av frie aminosyrer mellom eggporsjoner, kan være at plomme proteiner ble hydrolysert i ulik grad på oocytstadiet. Lysin, serin og leucin er essensielle som ikke embryo kan syntetisere selv, mens tyrosin og aspargin ikke er essensielle. Lysin er positivt ladet, tyrosin, aspargin og serin er uladete polare aminosyrer, mens leucin er upolar. Det er således ikke kjemiske fellestrekk mellom aminosyrene som forklarer hvorfor nettopp disse bidro til forskjeller mellom fisk. Imidlertid var serin, leucin, lysin i tillegg til glutamat og alanin de dominerende frie aminosyrer i kveiteegg. Forskjeller mellom disse aminosyrene og aminosyrer med lavere innhold, skal ikke ha betydning for resultatet, ettersom dataene var normalisert i multivariatanalysen.

Det ble ikke funnet signifikant nedgang i innhold av frie aminosyrer gjennom gyteperioden (Fig. 3.8.), i motsetning til torske-egg (Mårstøl *et al.* i trykk). Torske-eggens våtvekt avtok imidlertid samtidig og bidrar til å forklare reduksjonen.

Det var ikke sammenheng mellom totalt innhold av frie aminosyrer og overlevelse av kveite-egg (Fig. 3.12.). God overlevelse ble funnet i eggporsjoner med både høyt og lavt innhold av frie aminosyrer. Innhold av frie aminosyrer varierte mellom eggporsjoner hos torsk, men det var liten forskjell mellom porsjonene i befruktningsprosent, overlevelse og andel deformiteter (Mårstøl *et al.* i trykk). Disse resultatene står i kontrast til Dabrowski *et al.* (1985), som hevder at innhold av frie aminosyrer i fiske-egg er direkte relatert til befruktnings-suksess og antall levedyktige embryo produsert. Farestveit (1990) fant at eggporsjoner fra piggvar som overlevde fram til klekking, hadde i gjennomsnitt høyere innhold av frie aminosyrer enn eggporsjoner som døde. Han konkluderte ut fra dette at mengden av frie aminosyrer var viktigere for overlevelse av piggvar-egg enn den kvalitative sammensetning. Imidlertid var ikke et høyt innhold av frie aminosyrer en forutsetning for klekkesuksess (Farestveit 1990). Et forhøyet innhold av frie aminosyrer pga. overmodning, er negativt korrelert med befruktningsprosent og andel larver som klekket normalt hos stør (Federova 1976) og karpe (Statova *et al.* 1982).

Dette viser at det er motstridende resultater på betydningen av innhold av frie aminosyrer for

overlevelse av egg. Ut fra resultatene synes det derfor som om frie aminosyrer heller ikke hos kveite er egnet som kriterium for eggkvalitet.

#### 4.2.5. Fettsyrer i totalt lipid

Ubefruktede kveite-egg inneholder mellom 99,7 og 114,6 µg fettsyrer (Tab. 3.5.). Dette utgjør ca. 7 - 8 % fettsyrer på tørrvektbasis (Tab. 3.6.) Innholdet av fettsyrer regnes for å være ca. halvparten av totallipid (S. Wilhelmsen, pers. medd.). Fettsyreinholdet i egg fra forsøkskveitene utgjør ca. halvparten av totallipidinnhold i kveite-egg på 12 % av tørrvekt (Falk-Petersen *et al.* 1986). Innholdet av lipid og fettsyrer er lite sett i forhold til den lange perioden embryo skal tære på plommemassen (Falk-Petersen *et al.* 1989). Ubefruktede egg fra hvitting (*Merlangus merlangus*), hyse (*Melanogrammus aeglefinus*), torsk, sild, sei (*Pollachius virens*), sil (*Ammodytes lancea*) og lodde inneholder ca 10 - 26 % lipid av tørrvekt. For disse artene ble det funnet en korrelasjon mellom innhold av totalt- og nøytralt lipid og tiden mellom befruktning og klekking (Tocher & Sargent 1984). Fettsyresammensetningen (både totalt- polart og nøytralt lipid) er tilnærmet lik for disse artene. Dette viser at de samme fettsyrene inngår i basisfunksjoner i flere fiskearter (Tocher & Sargent 1984).

Eggporsjonene viste ikke tendens til lavere fettsyreinhold gjennom gyteperioden (Fig. 3.13.) til forskjell fra torskeegg, der det relative fettsyreinholdet var 23 % lavere i attende eggporsjon enn i første (Ulvund & Grahl-Nielsen 1988). For de samme egg-porsjonene hos torsk ble det funnet en reduksjon i tørrvekt på 21 - 22 % (Kjesbu *et al.* 1989). Dette tyder på at fettsyreinholdet avtar med eggstørrelsen hos torsk.

Egg fra den største fisken (C) hadde signifikant høyere totalinnhold av fettsyrer enn egg fra de andre fiskene. Fisk C og D var de to største av forsøksfiskene. Fisk A som var minst, gav egg med gjennomsnittlig nest høyest fettsyreinhold i egg (Tab. 3.5). Det ble imidlertid funnet størst avstand mellom fiskene A og C i en multivariatanalyse (Fig. 3.14). Dette antyder at det er forskjeller mellom fiskene som først fremkommer når data for enkeltfettsyrer taes med i vurderingen. Forskjellene mellom fiskene antas å være kvantitative, ettersom de samme fettsyrene ble funnet i alle eggporsjoner fra de fire fiskene.

Totalinnhold av n-3 PUFA varierte mellom 47,32 og 49,99 % (relativ mengde) i kveite-egg (Tab. 3.6.). Egg fra naturlige kveitebestander inneholder 36,1 % n-3 PUFA (relativ mengde) (Falk-Petersen *et al.* 1989). Årsaken til forskjellene kan være at kveitenes førsammensetning er forskjellig i naturen og i oppdrett. Fettsyrene 20:5 n-3 og 22:6 n-3 var de dominerende flerumettede fettsyrene i resultatene mine og dem vist i (Falk-Petersen *et al.* 1989). Disse fettsyrene er essensielle for fisk (Watanabe 1982). Det er derfor viktig at det finnes nok av



disse fettsyrene i eggets næringsreserver, til forbruk fram til startføring. Forholdet n-3 : n-6 PUFA i egg fra forsøksfiskene var mellom ca. 10 - 12 : 1 (Tab.3.6.), mens Falk-Petersen *et al.* (1989) fant forholdet å være 8,9 : 1. Mine resultater er i samsvar Tocher & Sargent (1984) hvor forholdet n-3 : n-6 var 10 - 15 : 1.

Alle eggporsjoner fra de fire fiskene inneholdt de 26 fettsyrene som vist i vedlegg B (Tab. B3 og B4). Hos torsk varierte fettsyresammensetningen mellom fisk og mellom egg fra samme egg-gruppe (Ulvund & Grahl-Nielsen 1988).

Til tross for at fettsyrer regnes som viktig i embryos energimetabolisme, viste ikke innholdet sammenheng med eggens overlevelse (Fig. 3.16.). Det ble funnet en sammenheng mellom innhold av fettsyrer og eggkvalitet hos torsk (Ulvund & Grahl-Nielsen 1988). Eggkvalitet var ikke nærmere definert av forfatterene.

Det var ingenting som tydet på at det var sammenheng mellom enkeltporsjonenes fettsyreinhold og stryketidspunkt. Devauchelle *et al.* (1988) fant høyere lipidinnhold i umodne gonader og overmodne piggvar-egg enn i levedyktige egg. Overmodne piggvaregg hadde til sammenligning et lavere innhold av fettsyrer enn befruktete flytende egg (Planas *et al.* 1991). Dette viser at effekten av overmodning på fettsyreinhold er forskjellig mellom arter. På grunnlag av resultatene ser det ut til at innhold av fettsyrer ikke er egnet for å beskrive eggkvalitet hos kveite.

#### 4.2.6. Eggstørrelse

##### Eggdiameter

Eggdiameter funnet i dette forsøket (Tab. 3.7.) er i samsvar med andre observasjoner gjort på kveite i oppdrett (Rollefsen 1934; Blaxter *et al.* 1983; Senstad 1984) og i naturen (Haug *et al.* 1984; Kjørsvik *et al.* 1987).

Det ble ikke funnet signifikant nedgang i eggdiameter hos noen av fiskene gjennom gyteperioden, i motsetning til Kjørsvik *et al.* (1987). De observerte en tendens til at eggdiameter på kveite-egg fra naturen avtok gjennom gytesesongen. Under kontrollerte betingelser i oppdrett, avtok eggdiameteren hos torsk signifikant (Kjesbu 1989; Kjesbu *et al.* 1989) og hos piggvar (Howell & Scott 1988). Bagenal (1971) fant også dette hos porsjonsgytende teleoster i naturen.

Det ble funnet spredning i eggdiameter innen eggporsjonene (Fig. 3.17.). Innslag av overmodne egg kan forklare noe av variasjonen. Overmodne egg fra trepigget stingsild har

større diameter enn nylig ovulerte egg (Lam *et al.* 1978).

Endringer i eggdiameter fra forsøksfiskene antas å være uahengig av temperatur- og salinitetsforskjeller, fordi variasjonene var små gjennom gytesesongen. I følge Bagenal (1971) vil en variasjon i saltholdighet fra 34 - 35 ppt, gi ca. 3 % variasjon i eggvolum. En temperaturvariasjon på 3 °C (+/-) hadde ikke effekt på eggdiameter hos torsk (Kjesbu 1989).

Signifikant sammenheng mellom egg- og morfiskstørrelse er vist i figur 3.18. Tilsvarende resultat er funnet hos torsk (Kjesbu *et al.* 1989) og piggvar (Howell & Scott 1988) i oppdrett hvor de ulike eggporsjoner er undersøkt. På grunnlag av egg innsamlet fra naturen, hevder Bagenal (1971) at store beinfisk generelt produserer større egg enn mindre fisk av samme art.

Det var ikke tendens til lavere overlevelse i eggporsjoner med stor spredning i diameter. I følge Kamler & Malczewski (1982) var eggstørrelse og da særlig spredningen i eggstørrelse et mål på eggkvalitet hos stør og brasme.

Eggstørrelse har sammenheng med hvor mye plommemasse som inkorporeres under vitellogenese (Kjesbu & Norberg 1991). Eggstørrelse kan også bli påvirket ved ulik hydratisering av oocytter, og forskjellig grad av kortikalreaksjon etter befruktning. Ulik grad av kortikalreaksjon er vist på torske-egg (Kjørsvik & Lønning 1983). Knutsen og Tilseth (1985) hevder at egg og larvestørrelse er korrelert, og at store egg har bedre overlevelse. Det ble funnet svak, men signifikant korrelasjon mellom eggdiameter fra alle fiskene samlet og overlevelse (Fig. 3.19.). Eggdiameter kan være et aktuelt mål på eggkvalitet hos kveite.

### Tørrvekt

Tørrvekt av kveite-egg (Tab. 3.8.) er i overenstemmelse med Finn (1989), og endrer seg lite gjennom sesongen for de fire kveitene. Dette mønsteret er svært ulikt det vi finner hos torsk, hvor eggenes tørrvekt reduseres med 20 - 30 % gjennom gytesesongen. Norberg & Kjesbu (1991) fant at torske-eggenes tørrvekt økte under modningsprosessen. Denne vektøkningen var tydeligst i de første eggporsjonene i gyteperioden, og tilsynelatende vekke i de siste eggporsjonene. Årsaken til det ulike sesongbildet i eggstørrvekt hos torsk og kveite, kan være at kveiten har store energiressurser å tære på gjennom gyteperioden og produserer få, store egg i forhold til kroppsstørrelsen (Godø & Haug 1988). Den har derved trolig større kapasitet til å investere like mye i eggene gjennom hele gyteperioden i motsetning til torsk. Hos kveite finnes energilagre både i muskulatur og i lever. Leveren er særlig energirik og inneholder 56 % lipid av tørrvekten (Haug *et al.* 1988). Levervekten reduseres gjennom sesongen, mens kroppsvekten (uten innvoller og gonader) er stabil (Haug & Gulliksen 1988b). Dette viser at kveiten har store ressurser å tære på for å bygge opp gonader.

---

Tørrvekten varierer både innen og mellom grupper for alle forsøksfiskene, men det er ikke funnet samvariasjon med overlevelse (Fig. 3.21.). Tørrvekt ser ikke ut til å være et uaktuelt kvalitetskriterium ut fra mine resultater.

#### 4.2.7. Konklusjoner

Eggenes overlevelse til dag åtte varierte mellom eggporsjoner fra de ulike fiskene gjennom deres gyteperiode. Alle fiskene gav egg med både høy og lav overlevelse gjennom gyteperioden. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller i overlevelse til dag åtte mellom eggporsjoner fra de fire fiskene.

Sannsynligheten for å få egg med god overlevelse var like god i begynnelsen som i slutten av gytesesongen. Ingen av forsøksfiskene, eller bestemte perioder av fiskenes gyteperiode kunne dermed utpekes som spesielt egnet for å få egg med god overlevelse.

Det ble funnet forskjeller i innhold mellom eggporsjoner fra forsøksfiskene i osmolalitet, innhold av frie aminosyrer og fettsyrer, samt størrelse. Forskjellene finnes i alle kveitene og det var ikke signifikante endringer gjennom fiskenes gyteperiode. Ut fra dette kan man konkludere at kveitene er i god kondisjon og har kapasitet til å investere like mye i eggene gjennom hele gyteperioden.

Den varierende overlevelse til dag åtte mellom eggporsjoner, kan ikke forklares med eggens innhold av frie aminosyrer eller fettsyrer, osmolalitet eller tørrvekt. Disse parametrene er her derfor ikke egnet som kriterier for eggkvalitet hos kveite. Parametrene varierer mellom enkeltporsjoner uten at det ble påvist sammenheng med overlevelse. Dette viser at kveite-egg tolererer en spredning i parametrene uten at det synes å få konsekvenser for overlevelse.

Eggdiameter viste svak, men signifikant korrelasjon med overlevelse og kan derfor være et aktuelt kriterium for eggkvalitet.

---

---

## Referanseliste.

- Alderdice, D.F., Rao, T.R. & Rosenthal, H. (1979). Osmotic responses of eggs and larvae of the Pacific herring to salinity and cadmium. *Helgolander wissenschaftliche Meeresuntersuchungen*, **32**, 508-538.
- Bagenal, T.B. (1971). The interrelation of the size of fish eggs, the date of spawning and the production cycle. *Journal of Fish Biology*, **3**, 207-219.
- Billard, R., Bry, C. & Gillet, C. (1981). Stress, environment and reproduction in teleost fish. In *Stress and fish*, (Pickering, A.D., ed.), pp. 185-208. London Academic Press.
- Blaxter, J.H.S., Danielssen, D., Moksness, E. & Øiestad, V. (1983). Description of the early development of the Halibut *Hippoglossus hippoglossus* and attempts to rear the larvae past first feeding. *Marine Biology*, **73**, 99-107.
- Bromage, N., Shields, R., Young, C., Bruce, M., Basavaraja, N., Dye, J. Smith, P., Gillespie, M., Gamble, J. & Rana, K. (1991). Egg quality determinants in finfish with special reference to the timing of stripping and methods of fertilization in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). In *Larvi'91 Fish & Crustacean larviculture symposium*, (Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers, E. & F. Ollevier, eds), pp. 201-202. European Aquaculture Society. Special Publications No. 15, Gent, Belgium, 1991.
- Campbell, C.M. & Idler, D.R. (1980). Characterization of an estradiol-induced protein from rainbow trout serum as vitellogenin by composition and radioimmunological cross-reactivity to ovarian yolk fractions. *Biological Reproduction*, **22**, 605-617.
- Carragher, J.F. & Pankhurst, N.W. (1991). Stress and reproduction in a commercially important marine fish, *Pagrus auratus* (Sparidae). In *Proceedings of the Fourth International Symposium on Reproductive Physiology of Fish*, (Scott, A.P., Sumpter, J.P., Kime, D.E. & Rolfe, M.S. eds), pp. 253-255, July 7-12 Norwich, England.
- Carragher, J.F., Sumpter, J.P., Pottinger, T.G. & Pickering, A.D. (1989). The deleterious effects of cortisol implantation on reproductive function in two species of trout, *Salmo trutta* L. and *Salmo gaidneri* Richardson. *General Comparative Endocrinology*, **76**, 310-321.
-

- 
- Craik, J.C.A. & Harvey, S.M. (1984). Egg quality in rainbow trout: The relation between eggviability, selected aspects of egg composition, and time of stripping. *Aquaculture*, **40**, 115 - 134.
- Craik, J.C.A. & Harvey, S.M. (1987). The causes of buoyancy in eggs of marine teleosts. *Journal of the Marine Biology Assosiation, United Kingdom*, **67**, 169-182.
- Dabrowski, K., Luczynski, M. & Rusiecki, M. (1985). Free Amino acids in the late embryogenesis and pre-hatching stage of two Coregonid fishes. *Biochemical Systematics and Ecology*, **13**, 349-356.
- Davenport, J., Lønning, S. & Kjørsvik, E. (1981). Osmotic and structural changes during early development of eggs and larvea of the cod, *Gadus morhua* L. *Journal of Fish Biology*, **19**, 317-331.
- Devauchelle, N., Alexandre, J.C., Corre, N.L. & Letty, Y. (1988). Spawning of turbot (*Scophthalmus maximus*) in captivity. *Aquaculture*, **69**, 159-184.
- Devold, F. (1938). The north Atlantic halibut and net fishing. *Fiskeridirektoratets Skrifter, Serie Havundersøkelser*, **5**, 1-47.
- Devold, F. (1939). Kveiteundersøkelsene i 1938. *Fiskeridirektoratets Skrifter, Serie Havundersøkelser*, **6**, 85-96.
- Falk-Petersen, S., Falk-Petersen, I.B., Sargent, J.R. & Haug, T. (1986). Lipid class and fatty acid composition of eggs from the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*, **52**, 207-211.
- Falk-Petersen, S., Sargent, J.R., Fox, C., Falk-Petersen, I.B., Haug, T. & Kjørsvik, E. (1989). Lipids in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs from planktonic samples in Northern Norway. *Marine Biology*, **101**, 553-556.
- Farestveit, R.J. (1990). Aminosyrer i egg og larver av rødspette (*Pleuronectes platessa*) og piggvar (*Scophthalmus maximus*). Hovedfagsoppgave til Cand. scient. graden i biokjemi, pp. 90. Kjemisk institutt, Universitetet i Trondheim.
- Federova, L.S. (1976). Physiologocal and biochemical characters of the reproductive products and larvae of sturgeons during artificial rearing. *Journal of Ichthyology*, **16**, 427-436.
-

- 
- Fevolden, S.E. & Haug, T. (1988). Genetic population structure of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **45**, 2-7.
- Finn, R.N. (1989). The energy and nitrogen metabolism of Atlantic Halibut eggs *Hippoglossus hippoglossus*. Master of Science in Aquaculture and Fisheries Management, pp. 101. University of Stirling.
- Finn, R.N., Fyhn, H.J. & Sula Evjen, M., (1991). Respiration and nitrogen metabolism of Atlantic Halibut eggs (*Hippoglossus hippoglossus* L.) *Marine Biology*, **108**, 11-19.
- Fortuny, A., Espinach Ros, A. & Amutio, V.G. (1990). Hormonal Induction of final maturation and ovulation in the sábalo, *Prochilodus platensis* Holmberg: Treatments, latency and incubation times and viability of ovules retained in the ovary after ovulation. *Aquaculture*, **73**, 373-381.
- Fulton, T.W. (1898). On the growth and maturation of ovarian eggs. *Fisheries Board, Scotland 16th. Annual report*, **3**, 83-134.
- Fyhn, H.J. (1989). First feeding of marine fish larvae: Are free amino acids the source of energy? *Aquaculture*, **80**, 111-120.
- Fyhn, H.J. (1990). Multiple functions of free amino acids during embryogenesis in marine teleosts. In *Proceedings of Development and Aquaculture of Marine Larvae*, (B.Th. Walther, H.J. Fyhn & A. Mangor-Jensen, eds), oral presentation no. 25, August 12-15 Bergen, Norway.
- Fyhn, H.J. & Serigstad, B. (1987). Free amino acids as energy substrate in developing eggs and larvae of the cod *Gadus morhua*. *Marine Biology*. **96**, 335-341.
- Godø, O.R. & Haug, T. (1988). Tagging and recapture of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*, in Norwegian waters. *Journal du Conseil pour l'Exploration de la Mer*, **44**, 169 - 179.
- Harboe, T., Næss, K., Rabben, H. & Skjolddal, L.H. (1990). Age of Atlantic halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.) at first feeding. *International Council for the Exploration of the Seas C.M.*, **F:53**.
- Haug, T. (1990). Biology of the Atlantic Halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L., 1758). *Advances in Marine Biology*, **26**, 1-70.
- Haug, T. & Gulliksen, B. (1988a). Fecundity and oocyte sizes in ovaries of female Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* (L.) *Sarsia* **73**, 259-261.
-

- 
- Haug, T. & Gulliksen, B. (1988b). Variations in liver and body condition during gonad development of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* (L.). *Fiskeridirektoratets Skrifter, Serie Havundersøkelser*, **18**, 351-363.
- Haug, T., Kjørsvik, E. & Solemdal, P. (1984). Vertical distribution of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, **41**, 798-804.
- Haug, T., Ringø, E. & Pettersen, G. W. (1988). Total lipid and fatty acid composition of polar and neutral lipids in different tissues of Atlantic Halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.). *Sarsia*, **73**, 163-168.
- Haug, T. & Tjelmsland, J. (1986). Changes in size- and age-distributions at sexual maturity in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*, caught in North Norwegian waters. *Fisheries Research*, **4**, 145-155.
- Helvik, J.V. (1988). Klekkeprosessen hos kveite (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Hovedfagsoppgave til Cand. scient. graden i fiskeribiologi, pp. 87. Institutt for Fiskeribiologi, Universitetet i Bergen.
- Helvik, J.V. & Pittman, K. (1990). Light affect hatching, development and pigmentation of halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *International Council for the Exploration of the Seas C.M.*, **F:40**.
- Hirose, K., Machida, Y. & Donaldson, E.M. (1978). Induced ovulation of Japanese Flounder (*Limanda yokohamae*) with Human chorionic gonadotropin and Salmon gonadotrofin, with special reference to changes in quality of eggs retained in the ovarian cavity after ovulation. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **45**, 31-36.
- Holmefjord, I. (1991). Timing of stripping relative to spawning rhythms of individual females of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). In *Larvi'91 Fish & Crustacean larviculture symposium*, (Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers, E. & F. Ollevier, eds), pp. 203-204. European Aquaculture Society Special Publications. No. 15, Gent, Belgium, 1991.
- Holmefjord, I. & Bolla, S. (1988). Effect of mechanical stress on Atlantic halibut eggs at different times after fertilization. *Aquaculture*, **68**, 369-371.
- Howell, B.R. & Scott, A.P. (1988). Ovulation cycles and post-ovulatory deterioration of eggs of the turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *International Council for the Exploration of the Seas C.M. Early Life History Symposium*, **F:59**.
-

- 
- Høvik Hansen, G. & Olafsen, J.A. (1989). Bacterial colonization of Cod (*Gadus morhua* L.) and Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs in marine aquaculture. *Applied and environmental microbiology*, **55**, 1435-1446.
- Jelmert, A. & Rabben, H. (1987). Upwelling incubators for the eggs of the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *International Council for the Exploration of the Seas C.M. F:20*.
- Kamler, E. & Malczewski, B. (1982). Quality of carp eggs obtained by induced breeding. *Polskie Archiwum Hydrobiologie*, **29**, 599 - 606.
- Karstang, T.V. & Kvalheim, O.M. (1990). Sirius, a program for multivariate calibration and classification. University of Bergen.
- Kjesbu, O.S. (1988). Oogenesis in cod (*Gadus morhua* L.) studied by light and electron microscope. In *Aspects of the reproduction in cod (Gadus morhua L.): oogenesis, fecundity, spawning in captivity and stage of spawning*, Kjesbu, O.S., Dr. scient.thesis, **1**, 1-36. Department of Fisheries Biology, University of Bergen, Norway.
- Kjesbu, O.S. (1989). The spawning activity of cod (*Gadus morhua* L.). *Journal of Fish Biology*, **34**, 195 - 206.
- Kjesbu, O.S. (1991). Oocyte growth in spawning Atlantic cod. *Proceedings of the Fourth International Symposium on Reproductive Physiology of Fish*, (Scott, A.P., Sumpter, J.P., Kime, D.E. & Rolfe, M.S., eds), pp. 324, July 7-12, Norwich, England.
- Kjesbu, O.S., Bratland, P. & Solemdal, P. (1989). Torskens gyting. *Norsk Fiskeoppdrett*, **1**, 74-75.
- Kjørsvik, E. (1990). The effects of different incubation conditions on the eggs of halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.). *Journal of Fish. Biology*, **37**, 655-657.
- Kjørsvik, E., Davenport, J. & Lønning, S. (1984a). Osmotic changes during the development of eggs and larvae of the lumpsucker, *Cyclopterus lumpus* L. *Journal of Fish Biology*, **24**, 311-321.
- Kjørsvik, E., Haug, T. & Tjemsland, J. (1987). Spawning season of the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) in northern Norway. *Journal de Conseil, international Exploration de la Mer*, **43**, 285-293.
-



- 
- Kjørsvik, E. & Lønning, S. (1983). Effect on egg quality on normal fertilization and early development of the cod, *Gadus morhua* L. *Journal of Fish Biology*, **23**, 1-12.
- Kjørsvik, E., Mangor-Jensen, A. & Holmefjord, I., (1990). Egg quality in fishes. *Advances in Marine Biology*, **26**, 71-113.
- Kjørsvik, E., Stene, E. & Lønning, S. (1984b). Morphological, physiological and genetical studies of egg quality in cod (*Gadus morhua* L.). In *The propagation of Cod Gadus morhua* L. *Flødevigen rapportserie*, (Dahl, E., Danielsen, D.S., Moksness, E. & Solemdal, P., eds.), **1**, 67-86.
- Klungøy, J., Tilseth, S., Wilhelmsen, S., Falk-Petersen, S. & Sargent, J.R. (1989). Fatty acid composition as an indicator of food intake in cod larvae *Gadus morhua* from Lofoten, Northern Norway. *Marine Biology*, **102**, 183-188.
- Knutsen, G.M. & Tilseth, S. (1985). Growth, development and feeding success of Atlantic cod larvae *Gadus morhua* related to eggsize. *Transactions of the American Fisheries Society*, **114**, 507-511.
- Lam, T.J. Nagahama, Y., Chan, K. & Hoar, W.S. (1978). Overripe eggs and postovulatory corpora lutea in the threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L., form *trachurus*. *Canadian Journal of Zoology*, **56**, 2029 - 2036.
- Lønning, S. & Davenport, J. (1980). The swelling of the long rough dab, *Hippoglossoides platessoides limandoides* (Bloch). *Journal of Fish Biology*, **17**, 359-378.
- Lønning, S. Kjørsvik, E. & Falk-Petersen, I.B. (1988). A comparative study of pelagic and demersal eggs from common marine fishes in Northern Norway. *Sarsia*, **73**, 49-60.
- Lønning, S. Kjørsvik, E., Haug, T. & Gulliksen, B. (1982). The early development of the halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.), compared with other marine teleosts. *Sarsia*, **67**, 85-91.
- Mangor-Jensen, A. (1986). Osmoregulation in eggs and larvae of the cod (*Gadus morhua* L.). Basic studies and effects of oil exposure. In: *Fish larval Physiology and anatomy, Basic research and effects of oil. Final report 1983-1985*, (Fyhn, H.J., ed), pp. 117-166. Zoological laboratory, University of Bergen, Norway.
- Mangor-Jensen, A. (1988). Eggfasen, eggets biologi. I *Oppdrett av kveite (Hippoglossus hippoglossus L.)*. (Rønnestad, I. ed), pp. 59-63. *Havforskningsinstituttets rapportserie, Avdeling for akvakultur*, akva 8806.
-

- 
- McEwoy, L.A. (Barton). (1984). Ovulatory rhythms and over-ripening of eggs in cultivated turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Journal of Fish Biology*, **24**, 437-448.
- Methven, D.A., Crim, L.W., Norberg, B., Brown, J., Goff, G.P. & Huse, I. (i trykk 1991). Seasonal reproduction and plasma levels of sex steroids and vitellogenin in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*.
- Methven, D.A. & Crim, L.W. (1991). Seasonal changes in spermatocrit, plasma sex steroids and motility of sperm from Atlantic halibut. *Proceedings of the Fourth International Symposium on Reproduction and Physiology of Fish*, (Scott, A.P., Sumpter, J.P., Kime, D.E. & Rolfe, M.S., eds), pp. 170, July 7-12, Norwich, England.
- Mollah, M.F.A. & Tan, E.S.P. (1983). Viability of catfish (*Clarias macrocephalus*, Gunther) eggs fertilized at varying post-ovulation times. *Journal of Fish Biology*, **22**, 563 - 566.
- Mårstøl, M., Fyhn, H.J., Kjesbu, O.S. & Solemdal, P. (i trykk, 1991). Free amino acid content as a potential selection criterion for egg quality in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Sarsia*, 1991.
- Nagahama, Y. (1987).  $17\alpha$ ,  $20\beta$ -Dihydroxy-4-pregnen-3-one: A teleost maturation-inducing hormone. *Development, Growth and Differentiation*, **29**, 1-12.
- Norberg, B. & Haux, C. (1985). Induction, isolation and a characterization of the lipid content of plasma vitellogenin from two *Salmo* species: Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and sea trout (*Salmo trutta*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, **81B**, 869 - 876.
- Norberg, B. & Kjesbu, O.S. (1991). Reproductive physiology in coldwater marine fish: Applications in aquaculture. *Proceedings of the Fourth International Symposium on Reproductive Physiology of Fish*, (Scott, A.P., Sumpter, J.P., Kime, D.E. & Rolfe, M.S., eds), pp. 239-245, July 7-12, Norwich, England.
- Norberg, B., Valkner, V., Huse, J., Karlsen, I. & Lerøy Grung, G. (1991). Ovulatory rhythms and egg viability in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*, **97**, 365-371.
- Oppen-Berntsen, D.O., Hyllner, S.J., Haux, C., Helvik, J.V. & Walther, B.T. (1990). Extra-ovarian origin of the three major eggshell proteins of Cod (*Gadus morhua*), and their induction by Estradiol-  $17\beta$ . In *Oogenesis and Hatching in Teleostean Fishes with Special Reference to Eggshell Proteins*. Oppen-Berntsen, D.O., Dr. scient. thesis, **II**, pp. 1-17. University of Bergen, Norway.
-

- 
- Opstad, I. (1990). Konsekvenser av fysisk stress på egg og larver av marin fisk. Sluttrapport NFFR, prosjekt. V 701.189. *Havforskningsinstituttets rapport serie*, L.nr. 16/90.
- Pethon, P. (1985). Aschehougs store fiskebok. Alle norske fisker i farger. pp. 447. H. Ascheoug & Co. (W. Nygaard) A/S.
- Pittman, K., Bergh, Ø., Opstad, I., Skiftesvik, A.B., Skjolddal, L. & Strand, H. (1990). Development of eggs and larvae of halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Journal of Applied Ichthyology*, **6**, 142-160.
- Planas, M., Garrido, J.L., Labarta, U., Fernández-Reiriz, M.J., Rodríguez, J.L. & Otero, J.J. (1991). Biochemical characteristics of the eggs of farmed turbot (*Scophthalmus maximus*) In *Larvi'91 Fish & Crustacean larviculture symposium* (Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers, E. & Ollevier, F., eds), pp. 207-209. European Aquaculture Society Special Publications. No. 15, Gent, Belgium, 1991.
- Rabben, H. (1987). A stripping method for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *International Council of the Exploration of the Sea*, **F:40**.
- Rabben, H. (1990). Utvikling av metode for masseproduksjon av kveiteyngel, I. *Norsk Fiskeoppdrett*, **11**, 18-20.
- Rabben, H. & Jelmert, A. (1987). Hatching of halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) eggs under different light conditions. *International Council of the Exploration of the Sea*, **F:17**
- Riis-Vestergaard, J. (1987). Physiology of teleost embryos related to environmental challenges. *Sarsia*, **72**, 351-358.
- Rollefsen, G. (1934). The eggs and the larvae of the halibut (*Hippoglossus vulgaris*). *Det Kongelige Norske Videnskabers Selskabs Forhandlinger*, **7**, 20-23.
- Schram, T.A. & Haug, T. (1988). Ectoparasites on Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.), from Northern Norway - potential pests in halibut aquaculture. *Sarsia*, **73**, 213-227.
- Senstad, K. (1984). Morfologisk og eksperimentell undersøkelse av kveitelarver (*Hippoglossus hippoglossus* L.) med resultater fra et fôringsforsøk. Hovedfagsoppgave til Cand. scient. graden i marinbiologi, pp. 131. Institutt for Marinbiologi, Universitetet i Bergen.
-

- 
- Silversand, C. & Haux, C. (1991). Isolation and characterization of the lipid composition of vitellogenin from three teleosts. *Proceedings of the Fourth International Symposium on Reproductive Physiology of Fish*, (Scott, A.P., Sumpter, J.P., Kime, D.E. & Rolfe, M.S., eds), pp. 326, July 7-12, Norwich, United Kingdom.
- Skiftesvik, A.B., Pittman, K., Opstad, I. & Bergh, Ø. (1990). When do halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae first feed? In *Aspects of the early life history of the Atlantic halibut (Hippoglossus hippoglossus L.): Embryonic and larval development and the effects of temperature*. Pittman, K.A., Dr. scient. thesis, V, 1-17. Department of Fisheries and Marine Biology, University of Bergen, Norway.
- Solemdal, P. (1967). The effect of salinity on buoyancy, size and development of flounder eggs. *Sarsia*, **29**, 431-442.
- Solemdal, P. (1970). Intraspecific variations in size, buoyancy and growth of eggs and early larvae of Arcto-Norwegian cod, *Gadus morhua* L., due to parental and environmental effects. *International Council for the Exploration of the Sea. C.M.*, **F:28**.
- Solemdal, P., Tilseth, S. & Øiestad, V. (1974). Rearing of halibut. Incubation and the early larval stages. *International Council for the Exploration of the Sea. C.M.*, **F:41**.
- Springate, J.R.C., Bromage, N.R., Elliot, J.A.K. & Hudson, D.L. (1984). The timing of ovulation and stripping and their effects on the rates of fertilization and survival to eying, hatch and swim-up in the Rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture*, **43**, 313 - 322.
- Statova, M.P., Talikina, M.G. & Kalnich, R.A. (1985). Free amino acids in the late embryogenesis and pre-hatching stage of coregonid fishes. *Biochemical Systematics and Ecology*, **13**, 349 - 356.
- Stavset Svendsen, Y. & Haug, T. (1991). Effectiveness of formalin, benzocaine, and hypo- and hypersalin exposures against adults and eggs of *Entobdella hippoglossi* (Muller), an ectoparasite on Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Laboratory studies. *Aquaculture*, **94**, 279-289.
- Thorsen, A., Wallace, R.A. & Fyhn, H.J. (1990). Free amino acids and K<sup>+</sup> in oocytes and eggs of marine fishes relative to preovulatory swelling. In *Proceedings of Development and Aquaculture of Marine Larvae*. (Walther, B.T., Fyhn, H.J. & Mangor-Jensen, A., eds), poster no. 29, August 12-15 Bergen, Norway.
- Tocher, D.R. & Sargent, J.R., (1984). Analyses of lipids and fatty acids in ripe roes of some northwest european marine fish. *Lipids*, **19**, 492-494.
-

- 
- Tocher, D.R., Fraser, A.J., Sargent, J.R. & Gamble, J.C. (1985). Fatty acid composition of phospholipids and neutral lipids during embryonic and early larval development in Atlantic herring (*Clupea harengus*, L.). *Lipids*, **20**, 69-74.
- Turnell, D.C. & Cooper, J.D.H. (1982). Rapid assay for amino acids in serum or urine by pre-column derivatization and reversed-phase liquid chromatography. *Clinical chemistry*, **28**, 527-531.
- Ulvund, K.A. & Grahl-Nielsen, O. (1988). Fatty acid composition of eggs of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **45**, 898-901.
- Valkner, V. (unpublis.). Effekt av lys på kveite-egg (*Hippoglossus hippoglossus* L.) med spesiell vekt på vannbalanse. Hovedfagsoppgave til Cand. Scient. graden i akvakultur. Institutt for Fiskeri- og Marinbiologi, Universitetet i Bergen.
- Vedel-Tåning, Å. (1936). On the eggs and young stages of halibut. *Meddelelser fra Kommissjonen for Danmarks Fiskeri- og Havundersøkelser, Serie Fiskeri*, **10**, 1-23.
- Wallace, R.A. (1978). Oocyte growth in nonmammalian vertebrates. In *The Vertebrate Ovary*, (Jones, R.E., ed), pp. 469-502. Plenum, New York.
- Wallace, R.A. (1985). Vitellogenesis and oocyte growth in nonmammalian vertebrates. *Developmental Biology*, **1**, 127-177.
- Wallace, R.A., King, J.L. & Sanders, G.P. (eds), (1986). The proteins. In *Biology the science of life*, second edition, pp. 64-69. Scott, Foresman and Company. U.S.A.
- Watanabe, T. (1982). Lipid nutrition in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **73B**, 3-15.
- Watanabe, T. (1985). Importance of the study of broodstock nutrition for further development of aquaculture. In *Nutrition and Feeding in Fish* (Cowey, C.B, Mackie, A.M. & Bell, S.G., eds), pp. 395-414. Academic Press, London.
- Watanabe, W.O. & Kuo, C-M. (1986). Water and ion balance in hydrating oocytes of the grey mullet, *Mugil cephalus* (L.), during hormone-induced final maturation. *Journal of Fish Biology*, **28**, 425 - 437.
- Wold, S. (1978). Cross-validatory estimation of the number of components in factor and principal component models. *Technometrics*, **20**, 397-405.
-

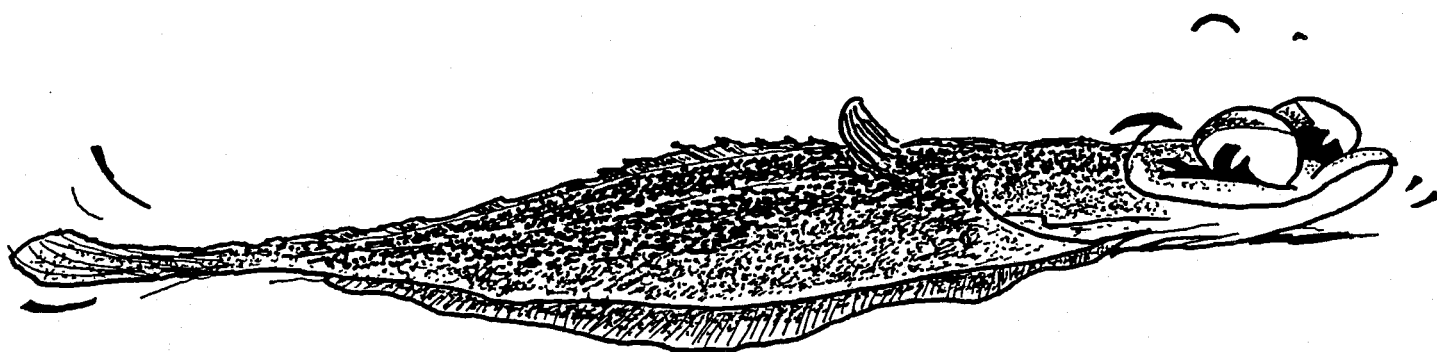
---

Zhukinskiy, V.N. & Kim, Y.D. (1981). Characteristics of age-related variability in the composition of amino acids and lipids in mature and overripen eggs of the Azov roach, *Rutilus rutilus heckeli*, and the Bream, *Abramis brama*. *Journal of Ichthyology*, **21**, 121-132.

---

## Vedlegg A

### Metoder, Instrumentbetingelser, reagenser og kjemikalier



## A.1 Frie aminosyrer

### *Metode for ekstrahering av frie aminosyrer*

1. Tre frosne parallelle eggprøver ble satt på is, og straks tilsatt 880 ul 1 N HNO<sub>3</sub> for ekstraksjon av frie aminosyrer. I tillegg ble det tilsatt 40 ul av internstandardene homo-cystein samt homo-serine og norvalin, som brukes som referansetopper for aminosyrene (Turnell & Cooper 1982). Totalt ble det tilsatt 1000 ul væske til hvert egg. Prøvene ble satt mørkt i kjøleskap (4 - 5 °C) i to timer. To timer ble valgt som standard ekstraheringstid på grunnlag av et forsøk der effekt av ulik ekstraheringstid på aminosyreinnholdet ble testet. Resultatet viser at et stabilt nivå av frie aminosyrer er oppnådd etter to timer (Vedlegg C.).

2. Etter to timer ble hver eggprøve rystet med en Fisons Whirl mixer i ca. 2 sek.

3. Deretter ble 100 ul av ekstraksjons-løsning pipetert over på 0.8 ml Chromacol-glass. Glassene ble dekket med parafilm for å hindre fordamping og satt i rekkefølge på HPLC ved 15 °C.

For at de frie aminosyrene skulle avleses i sin reelle konsentrasjon, ble eggprøvene relatert mot standard aminosyreprøver i fire ulike konsentrasjoner: 0.1-, 0.075-, 0.05- og 0.025 mM. Standard aminosyrer (Sigma chemical Co.) ble blandet og tillaget ved forsøksstart. Disse ble analysert i rekkefølge i starten av hver analyseserie.

### *Instrumentbetingelser*

Kolonne: Supelcosil LC-18, 150 x 4,6 mm. Porestørrelse 5 mikrometer

Autoinjektor: Gilson sample injector model 231, med Gilson Dilutor 401, (0,5 ml).

Detektor: Shimadzu RF 530 Fluorescence monitor, ekstiasjonsbølglengde 340 nm, emisjon "cut off" 440 nm.

Pumper: Shimadzu LC-6A, med trykk på ca. 1.35 x 100 kgf/cm<sup>2</sup>.



---

*Tidsprogram for inntak av to løsninger, A og B til HPLC.*

Tid (min)	Mengde mobilfase B
0,01	Start
0,02	1
4,0	1
16	16
20	16
25	39
30	48
35	40
39	55
40	55
49	99
50	1
51	Stopp

---

---

**Reagenser****OPA\2MCE**

500 mg OPA (o-Phthalaldehyd)  
10 ml metanol (gradient grad)  
400 ul mercaptoetanol

Fortynnes til 100 ml med natriumborat buffer.

Løsningen kan lages mørkt i romtemperatur to til tre uker, forutsatt at 4 ul mercaptoetanol tilsettes hver annen/ tredje dag.

**Stock A**

20 ml Propionsyre  
50 gr natriumdifosfat  $\text{Na}_2\text{PO}_4$  (350 nmol)  
Fortynnes til 1000 ml med destillert vann  
pH = 6.5

**Løsning A (Polar mobilfase):**

720 ml destillert vann ( $\text{H}_2\text{O}$ )  
200 ml Stock A  
80 ml acetonitril

**Løsning B (Mobilfase av lavere polaritet enn A):**

420 ml destillert vann ( $\text{H}_2\text{O}$ )  
300 ml acetonitril  
250 ml metanol  
30 ml dimetyl-sulfoksyd

---

---

## A.2 Fettsyrer i totalt lipid

### *Metode for opparbeiding og ekstrahering av fettsyreanalyser*

1. Eggprøvene ble hentet fra frys og homogenisert i 4.5 ml kloroform:metanol (2:1) med Potter Elvehjem homogenisator i ett min. Ved homogenisering knuses alt vev. Dette ble gjort for å sikre at alt lipidet ble løst.
  2. Homogenatet ble overført kvantitativt til et 10 ml sovirel rør. Volumet ble målt og tilsatt 1/4 del av homogenatets volum med 0.88 % KCL løsning (1.13 ml). KCL (kalium-klorid) løsning ble benyttet for å skille ut materiale som ikke var lipid.
  3. Blandingen ble sentrifugert ved 2000 omdr. pr. min i fem min. (Sigma 2mk sentrifuge), for å skille fasene. Prøven ble satt til side innil to klart avgrensede faser var dannet. En øvre vann/metanol fase og en nedre kloroform/metanolfase. Lipidene var samlet i kloroformdelen, mens ikke-lipid var samlet i den øvre fasen og ble fjernet.
  4. Den øvre fasen fjernes og 0.7 ml vann:metanol (2:1) tilsvarende 1/4 del av volum til kloroform/metanolfasen, ble tilsatt for å fjerne mulige rester av vann og ikke-lipid. Glasset ble rystet kraftig i ett min for å ekstrahere ut resterende lipid. Løsningen ble satt til side inntill to faser var dannet. Den øverste vann/metanolfasen ble fjernet.
  5. 2 ml av kloroformekstraktet ble pipettert over i et rent 10 ml sovirelrør. For å oppkonsentrere lipidene, ble væsken dampet inn til ca. 50 ul. Dersom prøven ved et uhell dampet helt inn, ble det tilsatt noen ekstra dråper kloroform (maks. 50 ul).
  6. 1 ml tørr metanol med 2 %  $H_2SO_4$  ble tilsatt.  $H_2SO_4$  ble brukt som syrekatalysator for å danne metyl-estere (transesterifisering). Fettsyrene må omdannes til de mer flyktige metyl-estrene for å kunne bestemmes på GC. Prosessen krever varme, så prøvene ble satt i varmeskap ved + 50 °C i minimum 16 timer. For å hindre fordamping av metyl-esterene, ble sovirel-røret tettet med teflonbelagt skrukork.
  7. Glassrøret ble avkjølt ved romtemperatur og tilsatt 3 ml 5 % NaCl løsning for å kunne få fettsyre-metylestrene over i hexan (se pkt. 8). Røret ble ristet godt.
-

---

8. Metyl-estrene ble ekstrahert ut med 3 ml hexan tre ganger. For fullstendig ekstraksjon av metylestere ble rørene ristet godt i ett min. etter hver tilsetning. Den øvre hexanfasen med metylestre ble pipettert over i et nytt 10 ml sovirelrør.

9. Hexanløsningen (totalt 9 ml) ble deretter dampet inn til ca. 100 ul med ren nitrogen gass.

10. Den oppkonsentrerte hexanløsningen ble overført til 2 ml Chromacol glass. Sovirelrøret ble skyllet med hexan for å ekstrahere eventuelle rester av metyl-estere. Væsken ble overført til det samme prøveglasset.

11. Hexanløsningen ble dampet inn til nesten tørr bunn. Deretter ble 2 x 500 ul hexan tilsatt med finpipette.

12. Deretter ble 100 ul hexanløsning overført til et nytt make glass, og tilsatt 2 x 500 ul hexan. Prøven ble da fortynnet 1:10. Dette ble gjort fordi konsentrasjonen av metyl-estere i ufortynnet prøve var for sterk til å kunne detekteres skikkelig på GC.

Diklormetan ble brukt for å fjerne lipidrester på utstyr som ble benyttet til flere eggprøver.

Etter opparbeiding ble prøvene lagret mørkt ved -30 °C fram til analysene startet, maksimalt én måned.

---

---

*Instrumentbetingelser*

Gasskromatograf: HP-5880 A  
Detektor: FID (Flamme-ionasjons-detektor)  
Kolonne: DB-225 30 W (J&W), 27 m x 0.32 mm.

Injeksjons temp.: 280 °C  
Detektor temp. : 250 °C

Temp. program :	Nivå 1	Nivå 2
Start temp.:	60 °C	
Start tid :	1 min.	
Program rate:	10 °C	2 °C
Slutt temp.:	160 °C	210 °C
Slutt tid:	1 min.	15 min.

Bæregass: Hydrogen, 40 cm/sek.  
"Make up gas": Nitrogen, 40 ml/min.  
Injeksjon: Splitless med split liner.  
Split vent, 20 ml/min.  
Septum purge. 4 ml/min.  
Det. luft, 400 ml/min.  
Det. hydrogen, 30 ml.

Labdatasystem: Laboratory Analysing System (LAS) som bestod av Hewlett Packard skjerm og tastatur (Hp 2627A) og GC terminal nivå fire (Hp 5880A).

*Kjemikalier*

Hexan (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>)  
Diklormetan  
Metanol (MeOH)  
Saltsyre (Hcl)  
Svovelsyre (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)  
Kloroform

Alle løsningsmidler ble destillert på høykolonne før bruk og holdt høyeste renhetsgrad (destillert fra teknisk grad).

---

---

*Utregning av absolutt mengde fettsyrer i totalt lipid.*

Gjennomsnitts-areal av C18:1(n-9) fra alle LINI-4 prøvene ble beregnet. Dette arealet utgjorde 13,2 ng C18:1(n-9).

$$2. \frac{13.2 \text{ ng} * AP * ul * 3 \text{ ml}}{AS * 2 \text{ ml} * 1000} = X \text{ } \mu\text{g C18:1(n-9) totalt i prøven.}$$

Dette utgjør Y % av total FAME.

$$3. \frac{T * Y}{100} = X \text{ (som er total FAME i prøven)}$$

$$T = \frac{X * 100}{Y}$$

AS = Gjennomsnittsarealet av C18:1(n-9) fra LINI-4 kjøringene.

AP = Arealet av C18:1(n-9) i prøven.

ul = Volumet prøven ble løst i før GC - analyse. Her 11000 ul.

3 ml = Total mengde kloroform som er brukt til ekstraksjon.

2 ml = Volum kloroform brukt i analysen.

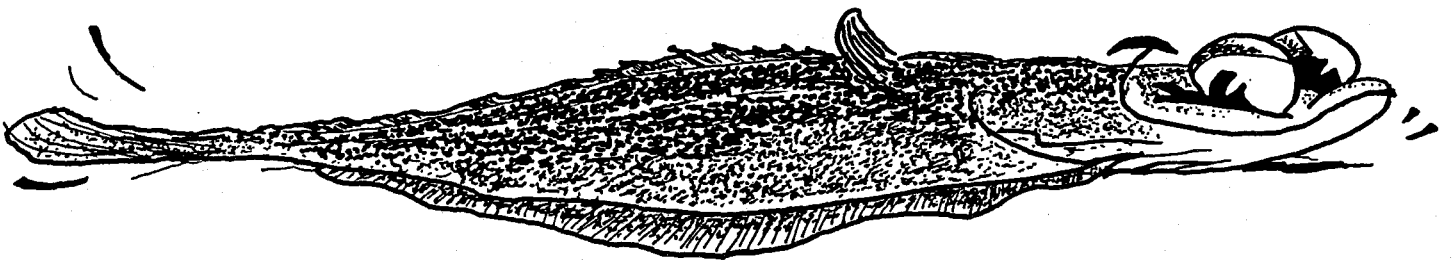
T = Total FAME

Y = % C18:1(n-9) fra utskrift = Beregnet mengde C18:1(n-9) i prøven.

---

**Vedlegg B**

**Tabeller**



Tabell B1. Gjennomsnittlig innhold av frie aminosyrer i ubefruktede egg fra eggporsjoner fra fire kveiter gjennom en gytesesong. Alle verdiene er gjennomsnitt av tre egg fra samme eggporsjon.

Eggporsjon nr. Aminosyre (nmol egg <sup>-1</sup> )	Fisk nr.															
	D				C				A				B			
	1	3	5	7	1	3	5	7	2	3	5	7	1	3	5	8
aspartat gj.snitt	84.40	75.76	69.32	39.43	57.68	62.03	59.16	59.09	57.09	47.56	47.78	56.25	55.93	34.47	69.59	72.09
glutamat	96.41	109.21	107.10	69.42	87.58	91.01	90.93	89.75	81.21	74.39	76.96	81.17	101.06	66.14	90.62	99.14
aspargin	112.16	125.41	103.50	95.46	107.89	98.17	105.06	128.63	95.16	41.59	41.90	94.58	234.87	161.45	113.90	113.83
serin	282.64	325.06	269.21	253.83	366.92	265.75	344.57	445.63	249.27	311.77	316.72	257.89	295.52	213.40	290.28	297.54
histidin	51.04	48.35	51.90	51.89	54.42	32.79	40.26	51.11	32.27	36.45	29.84	35.45	49.31	45.45	34.85	44.11
glutamin	173.09	202.73	168.11	155.21	159.50	141.52	141.85	249.27	153.64	159.37	126.59	156.64	183.40	130.54	175.63	165.72
glysin	102.47	113.21	88.93	88.93	137.59	82.40	106.29	166.02	85.19	109.95	98.92	88.15	95.86	90.75	111.87	114.57
treonin	91.51	95.76	92.77	80.90	79.55	79.08	78.39	95.16	73.84	72.41	63.50	78.63	99.35	66.72	96.37	103.48
arginin	111.56	129.01	111.88	90.06	137.30	94.89	120.93	140.59	84.36	93.75	92.06	91.96	113.10	90.18	108.20	115.65
alanin	196.76	149.25	130.58	175.84	214.75	193.50	201.81	271.00	191.40	170.77	147.99	195.56	255.97	173.63	215.34	202.28
taurin	83.00	89.00	82.95	70.33	91.99	59.03	69.83	97.42	62.56	84.09	71.35	69.29	95.37	89.35	64.15	67.00
tyrosin	100.47	109.18	92.27	77.38	57.85	39.58	57.90	91.43	84.48	35.50	29.90	42.78	222.72	126.51	100.31	105.75
valin	134.95	144.73	133.14	94.60	136.60	156.94	140.17	129.06	133.81	118.84	111.23	143.17	159.30	103.76	99.56	105.15
metionin	70.06	80.16	63.99	62.19	63.20	53.59	59.57	64.80	53.11	55.47	50.94	52.76	70.74	51.76	64.19	66.26
phenylalanin	28.25	32.34	25.80	24.22	22.21	21.11	21.14	20.26	18.64	17.67	15.93	21.27	19.86	12.94	30.20	30.54
isoleucin	62.72	60.11	54.05	40.06	51.05	53.14	51.18	44.58	48.07	39.67	36.89	49.39	54.73	35.41	55.72	58.43
leucin	254.27	264.21	213.89	212.49	301.89	287.48	283.91	308.68	188.48	260.52	238.04	285.76	282.35	186.25	251.78	264.26
lysin	228.49	315.80	242.41	184.11	273.45	211.40	229.45	364.39	207.89	336.32	316.53	229.32	254.51	205.26	243.07	240.58



Vedlegg B.2. Totalinnhold av frie aminosyrer i ubefruktede egg fra fire eggporsjoner for forsøksfiskene.

Verdier fra tre egg fra samme eggporsjon fra de ulike fiskene er vist.

0 GRUPPE	1 FISK	2 ASPARTIC	3 GLUTAMIC	4 ASPARGINE	5 SERINE	6 HISTIDINE	7 GLUTAMIN	8 GLYSINE	9 THREONINE
1 A2	A	0.049663	0.068256	0.082042	0.218554	0.028225	0.137377	0.078461	0.065281
2 A2	A	0.067116	0.098909	0.111782	0.286629	0.036807	0.176284	0.089749	0.086035
3 A2	A	0.054479	0.076450	0.091654	0.242624	0.031774	0.147265	0.087350	0.070215
4 A3	A	0.047708	0.074783	0.042677	0.320582	0.036715	0.164554	0.111333	0.071804
5 A3	A	0.047987	0.075060	0.042261	0.316497	0.039712	0.169056	0.115568	0.075754
6 A3	A	0.046997	0.073317	0.039838	0.298233	0.032908	0.144486	0.102959	0.069673
7 A5	A	0.046422	0.073090	0.039506	0.298050	0.027311	0.122339	0.089560	0.062339
8 A5	A	0.049194	0.078673	0.043151	0.324170	0.025636	0.117165	0.090472	0.059575
9 A5	A	0.047731	0.079102	0.043044	0.327941	0.036560	0.140277	0.116723	0.068592
10 A7	A	0.056733	0.080803	0.092837	0.249239	0.033865	0.154709	0.082766	0.078180
11 A7	A	0.054167	0.078972	0.092760	0.252106	0.034713	0.153114	0.086617	0.076476
12 A7	A	0.057852	0.083749	0.098136	0.272309	0.037820	0.162086	0.095066	0.081239
13 B1	B	0.056125	0.102642	0.238220	0.296567	0.050071	0.187820	0.094576	0.101459
14 B1	B	0.049353	0.089419	0.212936	0.275154	0.047336	0.168273	0.096297	0.089527
15 B1	B	0.062306	0.111121	0.253446	0.314853	0.050529	0.194097	0.096699	0.107071
16 B3	B	0.030279	0.053966	0.132466	0.174131	0.029572	0.104378	0.065396	0.056881
17 B3	B	0.035927	0.070804	0.172577	0.222643	0.055615	0.141289	0.102777	0.068644
18 B3	B	0.037211	0.073655	0.179308	0.243440	0.051164	0.145955	0.104083	0.074646
19 B5	B	0.068078	0.089778	0.117647	0.306545	0.037761	0.189042	0.127065	0.101276
20 B5	B	0.081530	0.105133	0.130283	0.330375	0.035277	0.187845	0.113183	0.105964
21 B5	B	0.059176	0.076954	0.093772	0.233927	0.031519	0.149995	0.095354	0.081858
22 B8	B	0.070721	0.095192	0.112638	0.293487	0.037951	0.167356	0.110578	0.102332
23 B8	B	0.067283	0.093684	0.116535	0.310587	0.045311	0.168140	0.137540	0.099363
24 B8	B	0.078260	0.108554	0.112313	0.288558	0.049072	0.161661	0.095600	0.108733
25 C1	C	0.058485	0.088901	0.109334	0.371914	0.055354	0.162350	0.140106	0.081991
26 C1	C	0.057356	0.085436	0.105303	0.352393	0.046475	0.150131	0.123325	0.076124
27 C1	C	0.057036	0.088405	0.109033	0.376460	0.061425	0.166014	0.149333	0.080522
28 C3	C	0.063684	0.089298	0.089883	0.247331	0.031584	0.133679	0.079817	0.079810
29 C3	C	0.061739	0.092813	0.102914	0.280383	0.032360	0.140462	0.081891	0.076092
30 C3	C	0.060677	0.090927	0.101717	0.269541	0.034431	0.150413	0.085485	0.081348
31 C5	C	0.058123	0.092002	0.109994	0.367480	0.044952	0.142586	0.117686	0.076669
32 C5	C	0.065360	0.096926	0.107028	0.342595	0.034745	0.140813	0.091418	0.082280
33 C5	C	0.054001	0.083859	0.098166	0.323622	0.041039	0.142151	0.109766	0.076218
34 C7	C	0.054388	0.080679	0.116466	0.400946	0.045977	0.223909	0.150853	0.086920
35 C7	C	0.060203	0.090930	0.134787	0.465976	0.051982	0.261581	0.173532	0.098124
36 C7	C	0.062666	0.097626	0.134648	0.469963	0.055365	0.262323	0.173669	0.100445
37 D1	D	0.072185	0.086347	0.111442	0.286725	0.064421	0.187465	0.119501	0.090442
38 D1	D	0.095443	0.107052	0.100338	0.243362	0.052530	0.155251	0.089912	0.089761
39 D1	D	0.085580	0.095818	0.124686	0.317835	0.036060	0.176556	0.097985	0.094319
40 D3	D	0.077353	0.112912	0.129453	0.334890	0.049544	0.209403	0.133286	0.098265
41 D3	D	0.075024	0.105501	0.119796	0.308572	0.048184	0.193065	0.127564	0.092824

0 GRUPPE 10 ARGININE 11 ALANIN 12 TAURIN 13 TYROSIN 14 VALIN 15 METHIONINE 16 PHENYLALANIN 17 ISOLEUCIN

1 A2	0.072181	0.174084	0.056265	0.073248	0.114605	0.045767	0.015627	0.041076
2 A2	0.098533	0.214900	0.068865	0.098700	0.160371	0.061917	0.022583	0.058363
3 A2	0.082364	0.185200	0.062552	0.081483	0.126466	0.051655	0.017709	0.044777
4 A3	0.099194	0.171168	0.087929	0.035405	0.128811	0.061414	0.019510	0.042962
5 A3	0.095306	0.177832	0.089158	0.037362	0.107300	0.049934	0.015886	0.036009
6 A3	0.086746	0.163320	0.075186	0.033719	0.120400	0.055071	0.017604	0.040050
7 A5	0.083821	0.144639	0.064932	0.028851	0.106888	0.047338	0.015053	0.035641
8 A5	0.092382	0.138633	0.061767	0.027421	0.104794	0.046197	0.014535	0.034553
9 A5	0.099971	0.160705	0.087364	0.033416	0.122001	0.059288	0.018198	0.040475
10 A7	0.087524	0.192657	0.066903	0.041067	0.143121	0.051097	0.020542	0.048976
11 A7	0.090177	0.191874	0.068760	0.042238	0.138849	0.051715	0.020815	0.048156
12 A7	0.098175	0.202151	0.072206	0.045023	0.147545	0.055481	0.022452	0.051040
13 B1	0.114316	0.259321	0.095184	0.249738	0.162337	0.072468	0.020408	0.056122
14 B1	0.106502	0.236120	0.098263	0.167686	0.141668	0.065206	0.017602	0.048277
15 B1	0.118473	0.272464	0.092648	0.250745	0.173891	0.074543	0.021575	0.059797
16 B3	0.063264	0.152377	0.057442	0.115261	0.088658	0.038375	0.009900	0.029330
17 B3	0.103275	0.173387	0.114397	0.126376	0.106820	0.057888	0.014096	0.036957
18 B3	0.103991	0.195118	0.096198	0.137885	0.115808	0.059017	0.014824	0.039945
19 B5	0.115611	0.234208	0.070684	0.099466	0.097644	0.067134	0.030521	0.054722
20 B5	0.118779	0.237419	0.062780	0.114232	0.115557	0.072982	0.034228	0.064391
21 B5	0.090211	0.174399	0.058992	0.087240	0.085480	0.052457	0.025843	0.048035
22 B8	0.108251	0.222784	0.063004	0.105307	0.102183	0.064958	0.030332	0.056825
23 B8	0.121747	0.220454	0.078169	0.105326	0.100095	0.069107	0.030721	0.056249
24 B8	0.116947	0.193605	0.059815	0.106610	0.113183	0.064723	0.030557	0.062218
25 C1	0.139960	0.219637	0.092717	0.059996	0.166931	0.078173	0.027703	0.062286
26 C1	0.128885	0.196563	0.081761	0.054792	0.106989	0.045793	0.016846	0.040655
27 C1	0.143050	0.228041	0.101486	0.058752	0.135874	0.065641	0.022065	0.050207
28 C3	0.086150	0.190042	0.054737	0.039479	0.157432	0.050686	0.020425	0.053198
29 C3	0.100545	0.189684	0.058274	0.037692	0.151269	0.052984	0.020597	0.051091
30 C3	0.097984	0.200784	0.064079	0.041581	0.162115	0.057095	0.022301	0.055133
31 C5	0.134191	0.200807	0.077332	0.053579	0.139139	0.063165	0.022032	0.050888
32 C5	0.112600	0.206957	0.058475	0.068306	0.142676	0.054580	0.020361	0.052044
33 C5	0.115988	0.197660	0.073683	0.051821	0.138679	0.060950	0.021017	0.050603
34 C7	0.123978	0.245037	0.087142	0.083147	0.122695	0.061332	0.019125	0.046393
35 C7	0.143981	0.279256	0.103428	0.092441	0.131341	0.065887	0.020445	0.049317
36 C7	0.153808	0.288691	0.101675	0.098691	0.133143	0.067175	0.021201	0.049912
37 D1	0.119383	0.197015	0.103747	0.100955	0.128888	0.074575	0.029803	0.060995
38 D1	0.101296	0.175542	0.074953	0.093402	0.135232	0.058785	0.023041	0.061846
39 D1	0.114006	0.217735	0.070302	0.107057	0.140714	0.076822	0.031890	0.065325
40 D3	0.134103	0.151927	0.090333	0.113429	0.144283	0.080810	0.032557	0.060761
41 D3	0.124037	0.143158	0.087874	0.106042	0.142830	0.079173	0.032181	0.059397

## Maxima Results Summary

0 GRUPPE 18 LEUCIN 19 LYSIN

---

1 A2	0.158860	0.176040
2 A2	0.228895	0.241764
3 A2	0.177691	0.205865
4 A3	0.284955	0.375753
5 A3	0.234956	0.293215
6 A3	0.261657	0.339978
7 A5	0.226205	0.274401
8 A5	0.220468	0.286406
9 A5	0.267449	0.388787
10 A7	0.276912	0.210562
11 A7	0.280983	0.224486
12 A7	0.299383	0.252923
13 B1	0.288150	0.254795
14 B1	0.251496	0.241249
15 B1	0.307388	0.267497
16 B3	0.147789	0.137516
17 B3	0.196006	0.234318
18 B3	0.214953	0.243955
19 B5	0.257543	0.265864
20 B5	0.289636	0.262387
21 B5	0.208166	0.200959
22 B8	0.259661	0.221202
23 B8	0.265774	0.288021
24 B8	0.267347	0.212482
25 C1	0.375352	0.335079
26 C1	0.238045	0.199863
27 C1	0.292275	0.285396
28 C3	0.279280	0.197795
29 C3	0.279384	0.211538
30 C3	0.303770	0.224860
31 C5	0.289324	0.255547
32 C5	0.279145	0.195811
33 C5	0.283250	0.236995
34 C7	0.294366	0.343806
35 C7	0.314611	0.371656
36 C7	0.317075	0.377709
37 D1	0.260263	0.252965
38 D1	0.223034	0.195349
39 D1	0.279507	0.237165
40 D3	0.256698	0.316463
41 D3	0.267468	0.309385

0 GRUPPE 1 FISK 2 ASPARTIC 3 GLUTAMIC 4 ASPARGINE 5 SERINE 6 HISTIDINE 7 GLUTAMIN 8 GLYSINE 9 THREONINE

42 D3	D	0.074892	0.109212	0.126980	0.331710	0.047317	0.205708	0.135471	0.096174
43 D5	D	0.062676	0.096363	0.106815	0.281852	0.054643	0.171222	0.133543	0.087707
44 D5	D	0.075954	0.117833	0.100185	0.256565	0.049162	0.164998	0.092885	0.097824
45 D5	D	0.086795	0.101925	0.099102	0.202492	0.097934	0.168218	0.105971	0.087888
46 D7	D	0.036985	0.066944	0.094379	0.252151	0.053503	0.156854	0.092762	0.079403
47 D7	D	0.040783	0.071140	0.097620	0.257500	0.051541	0.155716	0.088958	0.083746
48 D7	D	0.040518	0.070183	0.094386	0.251827	0.050618	0.153045	0.085077	0.079549

0 GRUPPE 10 ARGININE 11 ALANIN 12 TAURIN 13 TYROSIN 14 VALIN 15 METHIONINE 16 PHENYLALANIN 17 ISOLEUCIN

42 D3	0.128897	0.152676	0.088791	0.108065	0.147087	0.080494	0.032295	0.060166
43 D5	0.113963	0.136836	0.096419	0.092545	0.124121	0.069041	0.027472	0.051941
44 D5	0.109799	0.124320	0.069488	0.091994	0.142167	0.058754	0.024122	0.056166
45 D5	0.108187	0.092602	0.104607	0.095433	0.092781	0.106430	0.099271	0.091876
46 D7	0.091518	0.171398	0.074069	0.075848	0.091043	0.062166	0.023644	0.038736
47 D7	0.090833	0.179050	0.069385	0.079337	0.097050	0.061562	0.024335	0.041433
48 D7	0.087812	0.177077	0.067519	0.076949	0.095694	0.062850	0.024674	0.040001

0 GRUPPE 18 LEUCIN 19 LYSIN

42 D3	0.268450	0.321559
43 D5	0.215911	0.268232
44 D5	0.211864	0.216580
45 D5	0.100418	0.254700
46 D7	0.210495	0.190517
47 D7	0.217191	0.184504
48 D7	0.209797	0.177321

Tabell B3. Fettsyrer i totalt lipid i ubefruktede egg fra fire kveiter gjennom gytesesongen, relative mengder (vektprosent.). Verdien er gjennomsnitt av to parallelle målinger, hver med 25 egg. Fettsyrene 20:0, 22:0 og 24:0 er utelatt pga. lave verdier.

Fisk nr.	D				C				A				B		
	Eggporsjon nr.	1	3	5	7	1	3	5	7	2	3	5	7	3	5
14:0	3.28	3.45	3.04	3.49	3.29	3.27	3.35	3.38	3.27	3.30	3.34	3.37	3.23	3.27	3.37
15:0	0.42	0.43	0.46	0.45	0.42	0.42	0.43	0.43	0.37	0.38	0.39	0.39	0.42	0.42	0.44
16:0	18.40	18.97	16.88	19.28	18.46	18.32	18.53	18.58	18.70	18.84	18.98	18.99	17.99	18.42	18.68
17:0	0.23	0.24	0.21	0.23	0.24	0.23	0.26	0.23	0.21	0.20	0.20	0.20	0.25	0.27	0.26
18:0	3.81	3.61	3.37	3.44	3.88	3.92	3.67	3.58	3.86	3.66	3.48	3.32	3.57	4.01	3.62
16:1(n-9)	1.33	1.40	1.26	1.47	1.20	1.19	1.24	1.25	1.21	1.23	1.25	1.26	1.23	1.25	1.27
16:1(n-7)	2.55	2.65	2.26	2.70	2.45	2.43	2.49	2.50	3.13	3.17	3.20	3.20	2.46	2.51	2.05
16:2(n-4)	0.10	0.10	0.09	0.10	0.09	0.09	0.13	0.10	0.09	0.09	0.09	0.09	0.10	0.11	0.11
16:4(n-3)	0.24	0.13	0.10	0.12	0.11	0.37	0.10	0.12	0.12	0.11	0.11	0.10	0.13	0.14	0.14
18:1(n-9)	5.96	6.05	5.07	5.97	5.64	5.59	5.58	5.56	6.78	6.79	6.72	6.62	5.90	6.09	5.99
18:1(n-7)	2.02	2.06	1.89	2.05	2.08	2.07	2.09	2.08	2.22	2.23	2.22	2.20	2.15	2.22	2.02
18:1(n-5)	0.35	0.37	0.34	0.36	0.37	0.37	0.39	0.37	0.36	0.36	0.36	0.36	0.39	0.41	0.41
18:2(n-6)	2.61	2.65	2.16	2.55	2.43	2.38	2.37	2.34	3.37	3.40	3.39	3.37	3.15	3.19	3.17
18:3(n-6)	0.14	0.15	0.12	0.14	0.13	0.13	0.17	0.14	0.13	0.13	0.13	0.13	0.14	0.15	0.15
18:3(n-3)	0.43	0.47	0.40	0.46	0.42	0.42	0.47	0.43	0.46	0.47	0.47	0.47	0.47	0.50	0.49
18:4(n-3)	1.03	1.09	0.86	1.05	1.02	1.01	1.05	1.05	1.12	1.02	1.02	1.04	1.14	1.05	1.06
20:1(n-9)	3.02	3.08	2.86	3.09	3.12	3.09	3.10	3.10	2.97	3.00	3.02	3.01	3.32	3.35	3.39
20:1(n-7)	0.22	0.21	0.22	0.21	0.23	0.22	0.23	0.23	0.26	0.25	0.25	0.25	0.24	0.24	0.24
20:4(n-6)	1.36	1.20	1.33	1.23	1.44	1.53	1.33	1.34	1.28	1.17	1.09	1.02	1.08	1.44	1.20
20:4(n-3)	0.64	0.65	0.53	0.66	0.59	0.58	0.59	0.58	0.69	0.69	0.68	0.67	0.61	0.62	0.62
20:5(n-3)	13.20	13.34	12.33	13.68	13.32	13.37	13.27	13.40	12.47	12.51	12.55	12.48	12.77	13.58	13.23
22:1(n-11)	1.54	1.59	1.45	1.59	1.64	1.61	1.62	1.60	1.48	1.48	1.53	1.52	1.84	1.77	1.81
22:1(n-9)	0.33	0.35	0.30	0.34	0.33	0.33	0.33	0.34	0.33	0.34	0.34	0.35	0.38	0.38	0.39
22:5(n-3)	1.36	1.38	1.50	1.40	1.31	1.35	1.35	1.35	1.43	1.42	1.42	1.47	1.55	1.51	1.76
22:6(n-3)	31.08	31.41	29.71	31.49	33.75	32.67	32.49	33.41	30.93	31.12	31.18	31.05	30.57	30.78	30.84
24:1(n-9)	2.41	2.86	2.69	2.32	2.59	2.93	2.96	3.12	2.76	2.54	2.50	2.82	2.92	2.44	2.55
tot. mett	26.14	26.70	23.96	26.89	26.29	26.16	26.24	26.20	26.41	26.38	26.39	26.27	25.46	26.39	26.37
tot. mono	19.73	20.62	18.34	20.10	19.65	19.83	20.03	20.15	21.50	21.39	21.39	21.59	20.83	20.66	20.12
tot. poly	52.19	52.57	49.13	52.88	54.61	53.90	53.32	54.26	52.09	52.13	52.13	51.89	51.71	53.07	52.77
tot. n-3	47.98	48.47	45.43	48.86	50.52	49.77	49.32	50.34	47.22	47.34	47.43	47.28	47.24	48.18	48.14
tot. n-6	4.11	4.00	3.61	3.92	4.00	4.04	3.87	3.82	4.78	4.70	4.61	4.52	4.37	4.78	4.52
n-3:n-6	11.67	12.12	12.58	12.46	12.63	12.32	12.74	13.18	9.88	10.07	10.29	10.46	10.81	10.08	10.65
% fame (tvkt)	7.51	6.80	7.28	8.10	8.63	6.60	7.21	7.43	7.65	8.60	8.12	7.70	6.81	7.42	6.89

Vedlegg B.4. Totalinnhold av fettsyrer i ubefruktede egg fra fire eggposjoner for forsøksfiskene. Verdiene er gjennomsnitt av to parallelle fra hver eggposjon.

0 Fisk 1 Gruppe 2 14:00:00 3 15:00:00 4 16:00:00 5 16:1(n-9) 6 16:1n-7 7 16:2n-4 8 17:00:00 9 16:4n-3

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 A	a2	3.291	0.373	18.756	1.215	3.1460	0.093	0.210	0.116
2 A	a2	3.253	0.371	18.639	1.210	3.1060	0.089	0.206	0.114
3 A	a3	3.314	0.378	18.867	1.231	3.1770	0.093	0.204	0.117
4 A	a3	3.288	0.376	18.804	1.234	3.1630	0.091	0.203	0.109
5 A	a5	3.337	0.384	18.983	1.247	3.1900	0.092	0.200	0.109
6 A	a5	3.343	0.386	18.983	1.247	3.2030	0.096	0.203	0.118
7 A	a7	3.352	0.385	18.923	1.252	3.1820	0.093	0.198	0.105
8 A	a7	3.397	0.389	19.061	1.269	3.2170	0.094	0.196	0.100
9 B	b3	3.306	0.428	18.386	1.253	2.5190	0.099	0.246	0.129
10 B	b3	3.152	0.405	17.600	1.207	2.4060	0.101	0.244	0.134
11 B	b5	3.242	0.419	18.321	1.242	2.5060	0.126	0.285	0.143
12 B	b5	3.301	0.422	18.511	1.254	2.5210	0.102	0.260	0.130
13 B	b8	3.389	0.442	18.789	1.281	1.5630	0.109	0.256	0.137
14 B	b8	3.343	0.429	18.566	1.268	2.5280	0.104	0.254	0.133
15 C	c1	3.294	0.420	18.446	1.198	2.4470	0.094	0.236	0.100
16 C	c1	3.295	0.417	18.465	1.201	2.4450	0.094	0.236	0.123
17 C	c3	3.277	0.417	18.348	1.196	2.4300	0.093	0.233	0.366
18 C	c3	3.260	0.417	18.283	1.193	2.4220	0.094	0.235	0.378
19 C	c5	3.370	0.426	18.584	1.230	2.4810	0.095	0.229	0.100
20 C	c5	3.327	0.424	18.470	1.241	2.4890	0.159	0.290	0.100
21 C	c7	3.365	0.428	18.542	1.242	2.4880	0.097	0.231	0.119
22 C	c7	3.388	0.434	18.609	1.252	2.5120	0.097	0.226	0.117
23 D	d1	3.208	0.405	18.028	1.312	2.5030	0.095	0.229	0.376
24 D	d1	3.346	0.436	18.766	1.348	2.5920	0.094	0.240	0.100
25 D	d3	3.440	0.430	18.908	1.393	2.6430	0.102	0.242	0.127
26 D	d3	3.459	0.433	19.022	1.403	2.6640	0.099	0.230	0.128
27 D	d5	2.792	0.505	15.362	1.025	2.0600	0.085	0.185	0.094
28 D	d5	3.294	0.422	18.405	1.226	2.4660	0.096	0.231	0.114
29 D	d7	3.461	0.449	19.204	1.472	2.6950	0.101	0.237	0.123
30 D	d7	3.510	0.447	19.356	1.467	2.7151	0.101	0.230	0.122

	0 Fisk	10 18:00:00	11 18:1n-9	12 18:1n-7	13 18:1n-5	14 18:2n-6	15 18:3n-6	16 18:3n-3	17 18:4n-3	18 20:1n-9
1 A		3.837	6.771	2.222	0.358	3.367	0.131	0.459	1.0330	2.973
2 A		3.878	6.779	2.221	0.355	3.372	0.127	0.454	1.2028	2.964
3 A		3.626	6.787	2.232	0.361	3.394	0.131	0.468	1.0230	2.992
4 A		3.688	6.788	2.234	0.361	3.396	0.132	0.465	1.0230	2.998
5 A		3.487	6.706	2.220	0.360	3.385	0.133	0.473	1.0260	3.018
6 A		3.480	6.731	2.226	0.360	3.399	0.129	0.465	1.0320	3.023
7 A		3.498	6.660	2.213	0.363	3.361	0.133	0.477	1.0370	2.999
8 A		3.142	6.581	2.202	0.361	3.385	0.134	0.467	1.0370	3.023
9 B		3.594	6.033	2.196	0.398	3.215	0.143	0.480	1.0700	3.399
10 B		3.550	5.776	2.111	0.381	3.079	0.133	0.458	1.2020	3.235
11 B		3.999	6.085	2.215	0.409	3.176	0.158	0.498	1.0430	3.347
12 B		4.014	6.103	2.223	0.404	3.194	0.147	0.500	1.0590	3.354
13 B		3.592	6.015	2.214	0.411	3.187	0.153	0.499	1.0680	3.406
14 B		3.654	5.963	2.190	0.402	3.143	0.147	0.480	1.0480	3.365
15 C		3.910	5.646	2.078	0.367	2.431	0.135	0.426	1.0260	3.125
16 C		3.843	5.637	2.080	0.370	2.429	0.132	0.422	1.0210	3.121
17 C		3.935	5.595	2.076	0.369	2.389	0.136	0.427	1.0170	3.096
18 C		3.901	5.579	2.068	0.365	2.376	0.133	0.418	1.0090	3.092
19 C		3.598	5.559	2.072	0.369	2.357	0.139	0.427	1.0340	3.113
20 C		3.751	5.593	2.108	0.417	2.390	0.195	0.504	1.0640	3.079
21 C		3.661	5.548	2.075	0.370	2.333	0.135	0.429	1.0390	3.088
22 C		3.493	5.563	2.083	0.371	2.347	0.138	0.435	1.0510	3.115
23 D		3.712	5.845	1.976	0.347	2.566	0.137	0.422	1.0000	2.971
24 D		3.904	6.070	2.055	0.359	2.654	0.133	0.442	1.0500	3.077
25 D		3.736	6.054	2.059	0.371	2.639	0.149	0.469	1.0810	3.079
26 D		3.491	6.051	2.058	0.368	2.659	0.148	0.466	1.1040	3.080
27 D		2.929	4.563	1.707	0.301	1.985	0.111	0.364	0.7840	2.605
28 D		3.810	5.567	2.080	0.372	2.327	0.136	0.444	0.9260	3.114
29 D		3.538	5.980	2.046	0.360	2.543	0.140	0.463	1.0490	3.083
30 D		3.347	5.961	2.055	0.359	2.561	0.133	0.460	1.0470	3.091

0 Fisk 19 20:1n-7 20 20:4n-6 21 20:4n-3 22 20:5n-3 23 22:1n-11 24 22:1n-9 25 22:5n-3 26 22:6n-3 27 24:1n-9

1 A	0.257	1.266	0.669	12.473	1.464	0.338	1.413	30.893	2.743
2 A	0.254	1.296	0.702	12.458	1.494	0.330	1.454	30.972	2.772
3 A	0.244	1.150	0.692	12.480	1.486	0.338	1.401	31.137	2.547
4 A	0.248	1.181	0.679	12.532	1.478	0.331	1.433	31.108	2.529
5 A	0.251	1.092	0.678	12.556	1.528	0.333	1.443	31.207	2.480
6 A	0.252	1.078	0.681	12.537	1.537	0.337	1.404	31.155	2.514
7 A	0.248	1.160	0.670	12.573	1.495	0.345	1.473	30.870	2.815
8 A	0.248	0.872	0.674	12.377	1.552	0.345	1.464	31.225	2.832
9 B	0.246	1.066	0.622	12.994	1.921	0.388	1.589	31.220	2.967
10 B	0.243	1.111	0.601	12.540	1.749	0.372	1.508	29.924	2.881
11 B	0.242	1.421	0.612	13.350	1.769	0.374	1.526	30.878	2.517
12 B	0.241	1.455	0.625	13.380	1.761	0.376	1.485	30.682	2.369
13 B	0.245	1.161	0.618	13.242	1.824	0.394	1.544	30.770	2.574
14 B	0.234	1.228	0.620	13.223	1.786	0.377	1.968	30.902	2.527
15 C	0.227	1.486	0.587	13.354	1.641	0.329	1.308	32.995	2.574
16 C	0.225	1.401	0.586	13.290	1.642	0.325	1.307	34.504	2.615
17 C	0.227	1.547	0.579	13.374	1.592	0.331	1.330	32.605	2.906
18 C	0.217	1.521	0.587	13.360	1.635	0.327	1.365	32.726	2.963
19 C	0.228	1.311	0.584	13.322	1.616	0.332	1.335	32.673	2.994
20 C	0.225	1.341	0.590	13.226	1.621	0.326	1.374	32.316	2.928
21 C	0.228	1.419	0.581	13.417	1.592	0.334	1.345	34.002	3.138
22 C	0.226	1.261	0.581	13.375	1.614	0.339	1.347	32.820	3.099
23 D	0.213	1.296	0.629	12.950	1.527	0.332	1.356	30.537	2.533
24 D	0.221	1.426	0.660	13.448	1.545	0.337	1.368	31.618	2.293
25 D	0.217	1.295	0.653	13.385	1.564	0.353	1.428	31.196	2.882
26 D	0.209	1.111	0.656	13.300	1.623	0.353	1.332	31.636	2.847
27 D	0.190	1.084	0.475	11.049	1.296	0.272	1.590	26.576	
28 D	0.246	1.573	0.579	13.618	1.602	0.326	1.414	32.836	2.690
29 D	0.215	1.375	0.667	13.720	1.563	0.341	1.374	31.400	2.309
30 D	0.208	1.086	0.651	13.635	1.610	0.343	1.424	31.583	2.332

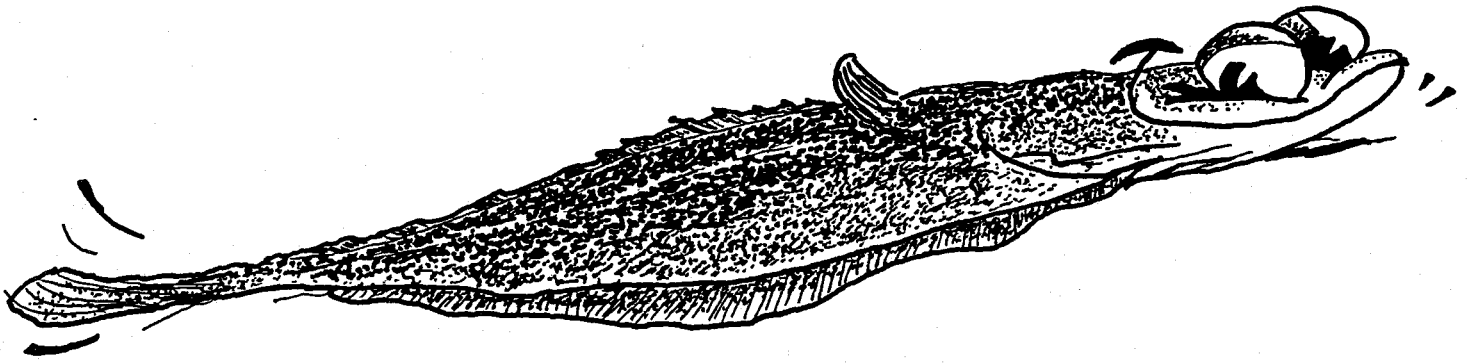


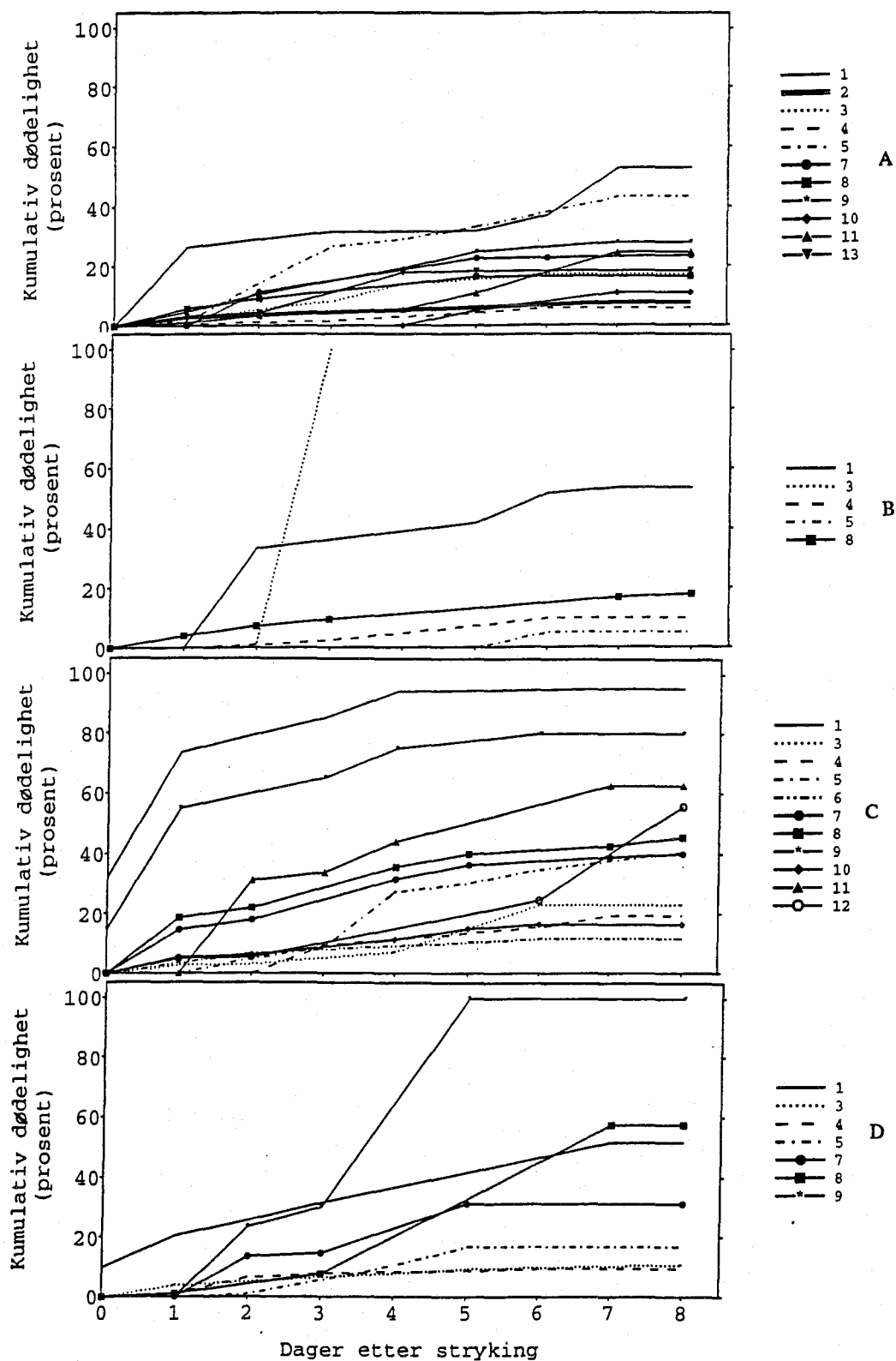
## Vedlegg B.5 Viabilitetsdata for egg og forsøksfisk .

0 Fisk _porsjon	1 Fiske lengde (cm)	2 Gruppe nummer	3 Egg porsjon	4 Ovulasjons interv. (t)	5 Strøket egg mengde (l)	6 % Befruktn.	7 Overlevende egg (l) dag8	8 % Overlevelse dag8 fra stryking
1 A1	130	16	1		1.90	51	0.90	47.368421
2 A2	130	19	2	72.0	0.65	95	0.60	92.307692
3 A3	130	21	3	85.0	0.70		0.58	82.857143
4 A4	130	25	4	78.0	1.50	97	1.40	93.333333
5 A5	130	27	5	71.0	1.20	62	0.68	56.666667
6 A6	130	31	6	100.0	1.20	90		
7 A7	130	33	7	79.0	0.70	42	0.42	60.000000
8 A8	130	35	8	85.0	1.40	90	1.17	83.571429
9 A9	130	37	9	75.0	1.70	95	1.23	72.352941
10 A10	130	39	10	80.0	1.00	89	0.89	89.000000
11 A11	130	42	11	72.0	1.80	94	1.36	75.555556
12 A12	130	44	12	13.0	0.20	76		
13 A13	130	46	13	48.0	1.80	95	1.47	81.666667
14 B1	135	3	1		0.60	90	0.28	46.666667
15 B3	135	6	3	75.5	0.20	70	0.00	0.000000
16 B4	135	9	4	73.0	0.80	86	0.72	90.000000
17 B5	135	11	5	73.0	0.40	96	0.38	95.000000
18 B6	135	15	6	72.0	1.50	92		
19 B8	135	18	8	71.0	1.90	95	1.56	82.105263
20 C1	150	23	1		1.70	31	0.08	4.705882
21 C3	150	30	3	74.0	2.50	84	1.92	76.800000
22 C4	150	32	4	79.0	2.90	88	2.32	80.000000
23 C5	150	34	5	85.0	1.90	85	1.13	59.473684
24 C6	150	36	6	82.0	2.20	98	1.94	88.181818
25 C7	150	38	7	85.0	3.80	80	2.28	60.000000
26 C8	150	40	8	79.0	3.60	64	1.97	54.722222
27 C9	150	43	9	24.0	1.00	39	0.20	20.000000
28 C10	150	45	10	48.0	2.80	93	2.37	84.642857
29 C11	150	48	11	48.0	0.80	88	0.30	37.500000
30 C12	150	49	12	24.0	1.60	88	0.71	44.375000
31 D1	151	5	1		2.00	60	0.97	48.500000
32 D3	151	10	3	72.0	2.50	89	2.23	89.200000
33 D4	151	13	4	77.0	2.00	73	1.80	90.000000
34 D5	151	17	5	79.0	2.10	80	1.75	83.333333
35 D6	151	20	6	75.0	1.20	98		
36 D7	151	22	7	77.0	2.00	54	1.38	69.000000
37 D8	151	26	8	53.0	0.80	43	0.34	42.500000
38 D9	151	28	9	94.0	0.30	66	0.00	0.000000

Vedlegg C

Figurer



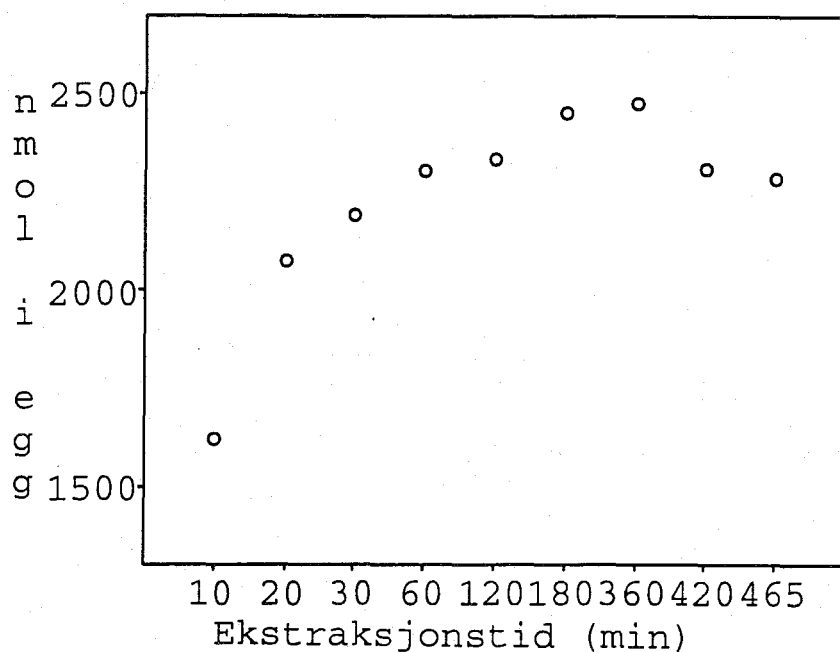


Figur C1. Kumulativ eggdødelighet fra stryking til dag åtte i eggporsjoner fra fiskene A, B, C og D, gjennom deres gyteperiode.

*Effekt av ekstraheringstid i 1N HNO<sub>3</sub> på konsentrasjon av frie aminosyrer fra egg.*

Det ble brukt 25 frosne egg fra samme porsjon og utviklingsstadium. Eggene ble tint og overført fra et cryorør til et 50 ml plastbeger med lokk. Cryorøret ble skyllet med 1 N HNO<sub>3</sub>, som ble overført til plastbegeret. Totalt ble eggene tilført 22 ml 1 N HNO<sub>3</sub>. I tillegg ble det tilsatt 1 ml av internstandard homocystein, og av hver av referansetoppene homo-serin og norvalin. Prøven ble oppbevart mørkt i kjøleskap. Etter 10, 20, 30 min, 1-, 2-, 3-, 6- og 8 timer, ble 100 ul ekstrakt pipetert over i 0.8 ml chromacolglass. Glasset ble lukket med parafilm og oppbevart mørkt i kjøleskap inntil prøven skulle analyseres på HPLC.

Total-innholdet av frie aminosyrer økte inntil 6 timers ekstraksjon. Deretter avtok innholdet til samme nivå som etter to timer (Fig. C2).



Figur C2 Ekstrahering av kveite-egg i 1N HNO<sub>3</sub>.