

ISSN 0804 - 211X

**HAVFORSKNINGSINSTITUTTET**  
**RAPPORT FRA SENTER FOR HAVBRUK 1993 NR. 1**

**Birgitta Norberg**

**KONTROLL AV REPRODUKSJON OG EGGKVALITET**  
**I MARIN FISK, SPESIELT KVEITE**  
**(Sluttrapport for NFFR-prosjekt V.701.232)**

**HAVFORSKNINGSINSTITUTTET**  
**SENTER FOR HAVBRUK - AUSTEVOLL HAVBRUKSSTASJON**

## *INNEHÅLLSFÖRTECKNING*

INLEDNING	1
PERSONAL	2
MÅL	3
GENOMFÖRANDE	3
Delprojekt 1	3
Delprojekt 2	3
Delprojekt 3	4
Delprojekt 4	4
RESULTAT OCH KONKLUSIONER	5
Delprojekt 1	5
Delprojekt 2	7
Delprojekt 3	9
Delprojekt 4	11
INFORMATION	12
RESULTATUPPFÖLJNING	12
RAPPORTER OCH PUBLIKATIONER	14

## INLEDNING

En stabil och säker produktion av livsdugliga ägg och larver kräver grundläggande kännedom om vad som styr växt och mognad av gameter. Bland de marina kallvattensarter som är aktuella för akvakultur i Norge, har intresset de sista åren i hög grad varit fokuserat på kveite. Man har också sett behovet av en stor arbetsinsats för att få god tillgång på ägg. En art som kveite ger flera äggportioner på en säsong och man baserar sig huvudsakligen på strykning och befruktning av ägg i förhållande till fiskens naturliga ovulationsrytmer. Om strykningen sker för lång tid efter ovulationstidpunkten, får man en kraftig reduktion i befruktningsprocent och överlevnad. Detta beror på en begynnande celldöd som brukar kallas övermognad. Effektiv stamfiskhantering är extra viktig för arter som kveite, där man av praktiska och ekonomiska skäl som regel håller små bestånd av stamfisk. För ett optimalt utnyttjande, krävs kännedom om fiskens normala könsutveckling, både under den fas när gonaderna växer till och under slutmognad av gameter.

Vuxen honkveite kan producera ägg många år i rad. Utvecklingen av ägganlagen, oogonierna, till äggceller, oocyter, och slutligen till ägg, tar antagligen mer än ett år och startar på signaler utifrån, som via flera steg i hjärnan överförs till gonaderna. De tidigaste stadierna i utvecklingen från oogonium till ägg är lite undersökta. Sex till åtta månader innan en honfisk ska bli könsmogen, börjar oocyterna att ta in och lagra näringsämnen som embryot eller larven kommer att leva av fram till dess att den är i stånd att själv ta till sig föda. Under denna period ökar oocyterna sin storlek flera tusen gånger, framför allt på grund av inlagring av guleprotein (no. "plommemasse"). Guleproteinernas ursprung är i levern, där de bildas i form av ett stort fosfolipopglycoproteinkomplex, vitellogenin, som transporteras i blodet till gonaderna och tas upp i oocyterna där det omvandlas till flera mindre enheter och lagras. I marin fisk som har pelagiska ägg, sker ytterligare en omvandling av lagrat protein i ägget vid ovulation, då ett antal större proteiner bryts ned till små peptider och aminosyror. Som en följd ökar det osmotiska trycket inne i oocyten och nedbrytningen av proteiner anses vara en viktig orsak till det massiva vattenupptag som sker i oocyten vid ovulation.

Både växt, slutmognad, hydrering och ovulation är hormonellt reglerade processer. Under förutsättning att fisken har en god näringsstatus, ger signaler utifrån, primärt ändringar i dagslängd, upphov till frisättning av speciella hormon från hypothalamus till hypofysen, som i sin tur av detta stimuleras att frisätta så kallade gonadotropiner, vilka sätter igång steroidhormonsyntes i follikelcellerna som omger oocyten. Under växtperioden eller vitellogenesen, producerar follikelcellerna estradiol-17 $\beta$ , som inducerar syntes av vitellogenin i levern, och testosterone, vars funktion är oklar. Vid slutmognad övergår follikelcellerna till att producera andra steroider, möjligen genom signal från ett annat gonadotropin än det som ger upphov till estradiol- och testosterone syntes. Vid projektets start var inget känt om vilka steroider som förekommer i kveite. Bilden av förloppen under vitellogenese och slutmognad var också i många andra avseenden oklar, exempelvis vad gäller starttidpunkten för vitellogenese, vilka mängder vitellogenin som förekom i cirkulationen under olika faser av gonadutvecklingen (viktigt med tanke på den energi som finns lagrad i vitellogenin och som går åt för att bygga upp gonaderna). Man antog också att tillväxt och

slutmognad av oocyter var separerade i tid, så att alla oocyter hade lagrat in allt guleprotein innan reproduktionssäsongen började och att slutmognaden sedan skedde portionsvis. Slutligen förekom en viss diskussion om huruvida fotoperioden verkligen hade avgörande betydelse i en art som reproducerar sig på flera hundra meters djup.

Mot denna bakgrund söktes, och beviljades, projektet "Kontroll av reproduktion och äggkvalitet i marin fisk, speciellt kveite" hos NFFR. Projektet kan ses som en vidareföring av ett tidigare NFFR-projekt, "Indusert forplantning i marin fisk" (V.701.148). I det sistnämnda projektet prövades olika metoder att kontrollera tidpunkt för könsmognad och ovulation i marin fisk, men det stod mycket snart klart att man, för att framgångsrikt kunna styra dessa förlopp, behövde utvidga baskunskapen inom reproduktionsfysiologi i de aktuella arterna.

### **PERSONAL**

*Vetenskapligt huvudansvariga för projektet har varit, i tur och ordning:*

Ingvar Huse (1989)

Håvard Rabben (1990)

Birgitta Norberg (1990-91)

*Projektmedarbetare, avlönade av NFFR:*

Birgitta Norberg (projektledare), Sigrid Jösøndal Naess

*Övriga medarbetare som i hög grad bidragit till att projektet kunnat genomföras (i alfabetisk ordning):*

Grethe Kvåle Dørum, Jorunn Sanden Hennø, Janne Huse, Ingve Karlsen, Svein Jarle Vatnøy

*Vetenskapliga samarbetspartners:*

Dr Carl Haux Göteborgs universitet, Sverige

Christer Silversand Göteborgs universitet, Sverige

Dr Adelino V. M. Canario Universidade do Algarve, Portugal

Dr Alexander P. Scott Fisheries laboratory, Lowestoft, England

Dr. Lawrence W. Crim Marine Sciences Research Laboratory, Newfoundland, Canada

David A. Methven Marine Sciences Research Laboratory, Newfoundland, Canada

Dr. Olav S. Kjesbu Havforskningsinstituttet, Senter for Resurser.

## **MÅL**

Projektets huvudmål var att öka kunskapen om grundläggande reproduktionsfysiologi i marin fisk, speciellt kveite, för att därigenom ge ett bättre grundlag för säker produktion av livsdugliga ägg.

Mer konkret hade projektet följande delmål:

- 1) Kartlägga individuella ovulationsrytmer och påvisa betydelsen av att dessa följs för äggens befruktningsbarhet.
- 2) Följa årstidsvariationer i vitellogenin, estradiol-17 $\beta$  och testosterone i honfisk av kveite.
- 3) Identifiera steroidhormon som är aktiva under slutmognad av oocyter till ägg i kveite.
- 4) Studera effekt av fotoperiod på tidpunkt för könsmognad i kveite.

## **GENOMFÖRANDE**

### **Delprojekt 1: Ovulationsrytmer och livsduglighet av ägg i kveite.**

För att optimera utbytet av ett begränsat antal stamfiskhonor, gjordes en tät uppföljning av fyra individer från januari till april 1989. Två av fiskarna var ca 130 cm långa och vägde ca 25 kg, medan en var ca 145 cm och vägde ca 50 kg och en var ca 150 cm med en vikt på ca 60 kg. Alla fyra fiskarna hade givit ägg med god befruktningsbarhet året innan. Vid kontroll leddes fisken till ett mekaniskt strykbord, och lyftes upp ur vattnet. Om ägg rann ur fisken samlades dessa upp i litermått och befruktades. Om ägg inte rann ur fisken släpptes den tillbaka i vattnet och en ny kontroll gjordes fyra till tolv timmar senare, beroende på om ovarievätska och enstaka ägg kom ut ur fisken då denna lyftes upp. För att fastslå ett ungefärligt ovulationsintervall, kontrollerades fisken 48 och 60 timmar efter den första strykningen, och därefter med fyra till sex timmars mellanrum fram till strykning nummer två. Mellan den andra och tredje strykningen upprepades detta förfarande och därefter följdes fisken i förhållande till tidsperioden mellan äggportionerna efter de första tre strykningarna. Befruktning skedde med mjölke från två hanar per hona och ca 5 ml mjölke per liter ägg. Vid befruktning blandades mjölke och saltvatten och sattes till äggen i ett volymratio av ca 3 liter vatten per liter ägg. Äggen hölls hela tiden i mörker och överfördes 30 minuter efter befruktning till 250 l uppströmsinkubatorer, med en maximal täthet av 200 ägg per liter.

### **Delprojekt 2: Årstidsvariationer i plasmanivåer av vitellogenin, estradiol-17 $\beta$ och testosterone i honfisk av kveite.**

Delprojektet genomfördes i samarbete med Dr. Lawrence W. Crim och David A.

Methven, Marine Sciences Lab, Ocean Science Centre, Memorial University of Newfoundland, St John's, Canada.

Adulta honor följdes med blodprovstagningar varje månad från juli 1988 fram till könsnognad i januari 1989, och därefter med provtagning med tio till tolv dagars mellanrum under ovulationsperioden. Vid varje provtagning togs ca två ml blod från Ductus Cuvierii i var fisk. Blodet centrifugerades och blev omedelbart nedfruset och förvarades vid -20°C fram till analys. Estradiol-17 $\beta$  och testosteroone analyserades med en radioimmunologisk metod (RIA) baserat på kommersiellt tillgängligt antiserum (ICN), medan vitellogenin analyserades med en RIA-metod som utvecklats på Austevoll havbruksstasjon inom NFFR-projektet "Indusert fortplantning i marin fisk". Adulta honor följdes med blodprovstagning varje månad från maj 1989 fram till könsnognad i januari 1990. Under säsongen togs prover med tätare intervall, samtidigt som fiskens ovulationsrytmer följdes och ägg ströks. På så sätt kunde plasmanivåer av steroider relateras till fiskens utvecklingsstadium. Blodprov togs på samma sätt som tidigare och fria steroider, steroidsulfater och steroidglucuronider extraherades och analyserades.

### **Delprojekt 3: Identifiering av steroider aktiva vid slutnognad av oocyter i kveite.**

Delprojektet genomfördes i samarbete med Dr. Adelino V. M. Canario, Universidade do Algarve, Portugal, och Dr Alexander P. Scott, Ministry of Agriculture, Food and Fisheries, Fisheries Research Lab, Lowestoft, England.

För identifikation av de steroidhormon som syntetiseras i gonader av könsnogen kveite, togs ca 1 gram ovarievävnad av könsnagna honor och 1 ml mjölke av hannar. Vävnaden inkuberades med 20  $\mu$ Ci  $^3$ H-17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone i 2 ml 70% L-15 (Leibowitz inkubationsmedium) med pH 7.5. 17- $\alpha$ -hydroxyprogesterone bildar utgångsmaterial för de aktuella könssteroiderna. Inkubationen fick pågå i 4 timmar, vid 8°C. De steroider som syntetiserats identifierades med hjälp av tunnskiktskromatografi. Plasmanivåer av fria steroider, steroidsulfater och steroidglucuronider mättes med hjälp av specifika RIA-metoder i prover som tagits från könsnagna honor i olika stadier. Estradiol-17 $\beta$  och testosteroone mätts med RIA baserad på kommersiellt antiserum, som angivits ovan, medan 17 $\alpha$ -OH,20 $\beta$ -diOH-4-pregnen-3-one och 11-deoxycortisol mättes med RIA-metoder baserade på antisera som framställts vid Fisheries Research Lab i Lowestoft.

### **Delprojekt 4: Effekt av fotoperiod på tidpunkt för könsnognad i kveite**

Delprojektet inleddes som en del av NFFR-projektet "Indusert forplantning i marin fisk", 1987. I försöket fördelades juvenil kveite i fyra kar med ljusisolering och individuell ljusstyrning. De fyra grupperna utsattes för olik fotoperiod enligt följande:

1. Kontrollgrupp. Ljuset slogs på och av i enlighet med normal soluppgång och solnedgång i Bergensområdet.
2. Komprimerad årscykel. Fisken fick en fotoperiod som gav förändring i dagslängd från sommarsolstånd till sommarsolstånd på sex månader i stället för ett år.

3. Utsträckt fotoperiod. Fisken fick en fotoperiod som gav förändring från sommarsolstånd till sommarsolstånd på två år i stället för ett år.
4. Förskjuten fotoperiod. Fisken fick en fotoperiod som gick från sommarsolstånd till sommarsolstånd på ett år, men som var sex månader ur fas med kontrollgruppen. Denna grupp hade alltså årets längsta dag i december.

Alla fyra grupperna fick vatten från 50 meters djup, med en årlig temperaturvariation mellan 5°C och 11°C.

## **RESULTAT OCH KONKLUSIONER:**

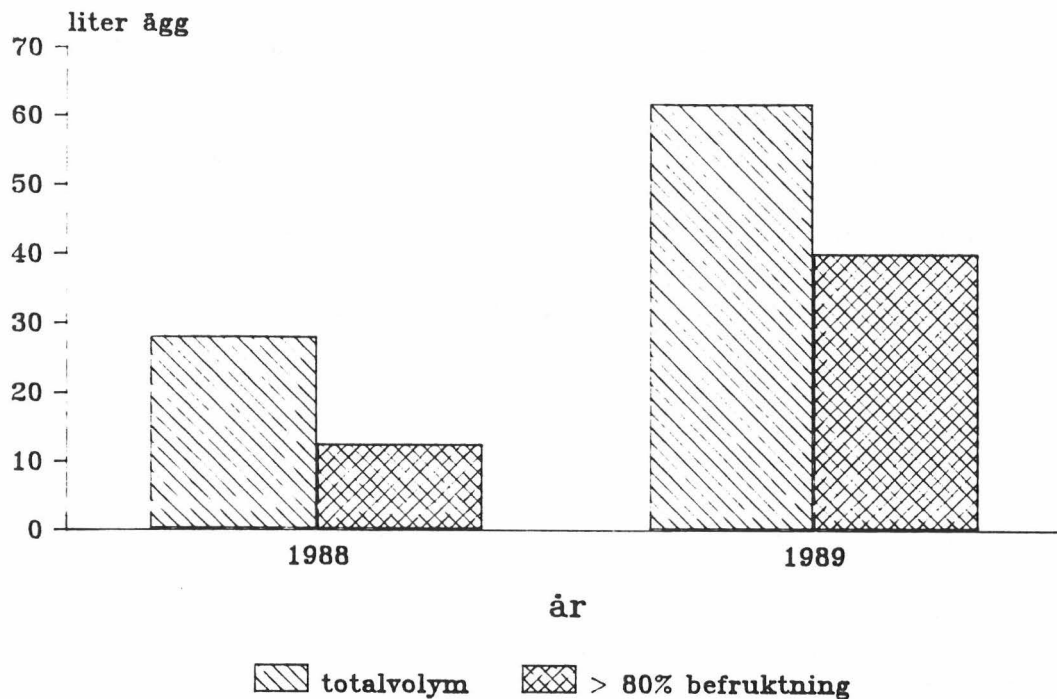
### **Delprojekt 1: Ovulationsrytmer och livsduglighet av ägg i kveite.**

Inledningsvis gjordes ett försök att "vänta ut" de första äggportionerna för att dessa skulle släppas i karet och man därigenom skulle få en uppfattning om fiskens ovulationsintervall. Det stod snart klart att denna metod inte var användbar på den grupp av fisk som valts ut till försöket, då minst två av dem höll de ovulerade äggen inne i gonadens lumen i stället för att släppa dem i karet. Istället togs fisken upp för kontroll av mognadsgrad. Mognadsgraden framgick dels av utseendet på kloaköppningen, vilken i mognande fisk sväller och blir kraftigt vaskulariserad samtidigt som utförsgångarna från ovarierna utvidgas; dels av den från utsidan synliga storleken på gonaden. Det genomsnittliga ovulationsintervallet i de fyra fiskarna varierade mellan 72 och 80 timmar (tabell 1), men blev mer oregelbundna mot slutet av ovulationsperioden. Total äggvolym i de fyra fiskarna var 61.6 l, mot 28 l året innan. Volym ägg med mer än 80% befruktning var 40 l, jämfört med 12.5 l året innan (Fig. 1). Ingen korrelation fanns mellan portionsvolym och befruktningsprocent (Fig. 2).

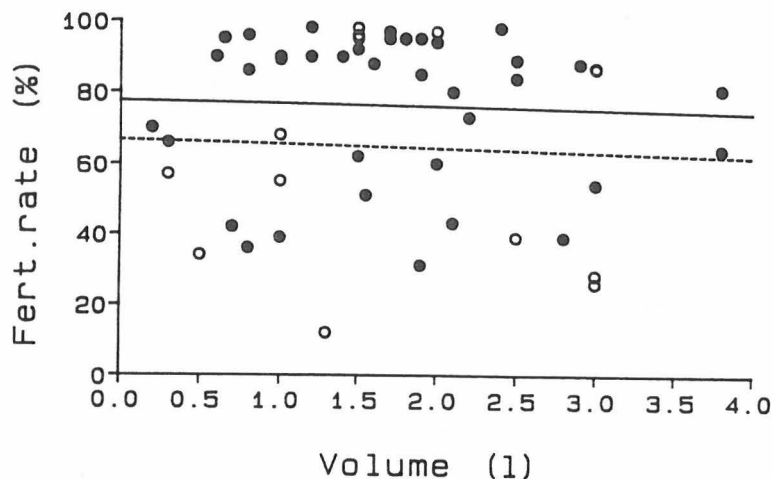
Fisk nr	Antal äggportioner	Volym	Befruktning	Ovulationsintervall
4	8	15.4 l	71 ± 5.3%	75.7 ± 4.5 timmar
5	11	27.2 l	78 ± 7.6%	79.7 ± 2.6 timmar
9	12	13.2 l	81 ± 6.2%	79.5 ± 3.0 timmar
17	6	5.8 l	88 ± 3.9%	72.2 ± 0.6 timmar

*Tabell 1. Antal äggportioner, total volym, genomsnittlig befruktningsprocent och genomsnittligt ovulationsintervall i de fyra stamfiskhonor av kveite som följdes säsongen 1989.*

Resultaten visar en kraftig förbättring i äggens befruktningsbarhet då hänsyn tas till de individuella ovulationsrytmerna. Övermognad av ägg har visat sig vara ett problem



Figur 1. Totalvolym av ägg respektive volym ägg med >80% befruktning i fyra honor av kveite, 1988 och 1989.



Figur 2. Korrelation mellan befruktningsprocent och portionsvolym, 1988 (öppna cirklar,  $r=-0.0363$ ) och 1989 (fyllda cirklar;  $r=-0.0334$ ) Figur från Norberg B et al. Ovulatory rhythms and egg viability in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture* 97, 365-371 (1991).

i flera arter, om strykning sker för sent i förhållande till ovulationstidpunkten. Om äggen befinner sig på ett tidigt stadium av övermognadsprocessen, kan detta möjligen ha effekter på kläckprocent och överlevnad på larvstadiet, men detta är inte utrett. Äggens befruktningsbarhet försämras i löpet av timmar efter ovulationen. Det innebär att för ett fullgott utnyttjande av ett stamfiskbestånd krävs en stor arbetsinsats, då man får övervaka fisken dygnet runt i flera månader. Detta gör i sin tur att antal



individer i ett bestånd bör vara begränsat, för att man inte ska mista kontrollen. Metoden med att "vänta ut" de första äggportionerna från varje fisk, för att därigenom dokumentera fiskens ovulationsintervall, har i detta och andra projekt på Austevoll visat sig mindre lämplig. Vissa individer har för vana att "hålla på äggen", så att de inte släpps ut förrän långt efter de blev ovulerade. En följd av detta blir att man på goda grunder kan tvivla på om de individer som släpper äggen i karet gör detta direkt efter ovulation eller om man också här har en fördröjning - och om denna i så fall är lika stor varje gång. En noggrann dokumentering av ovulationsrytmerna i individuella fiskar visar också att dessa inte är konstanta - en ändring i vattentemperatur ger upphov till förändrad ovulationsrytm; i tillägg blir rytmen mer oregelbunden mot slutet av ovulationsperioden. Den logiska konklusionen av de här redovisade resultaten blir att man för en lönsam äggproduktion bör satsa på forskning och utveckling av system för naturlig reproduktion. Detta skulle eliminera eventuella effekter av hanteringsstress på fisken, samtidigt som det ger förbättrade arbetsförhållanden för personalen.

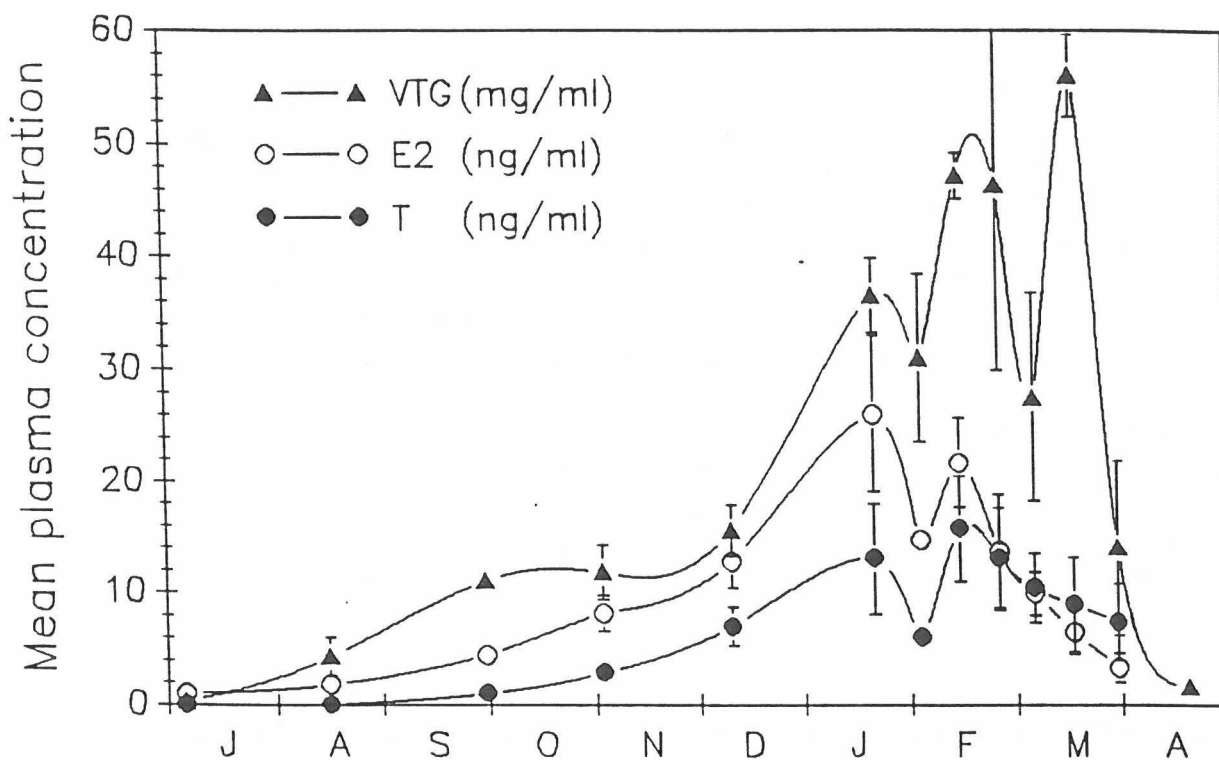
## **Delprojekt 2: Årstidsvariationer i plasmanivåer av vitellogenin, estradiol-17 $\beta$ och testosterone i honfisk av kveite.**

Detekterbara nivåer av estradiol och testosterone observerades i alla honor i september, medan vitellogeninnivåerna låg över detektionsgränsen under hela provtagningsperioden. Plasmanivåerna av alla tre parametrarna ökade långsamt under hösten, för att stiga snabbare mellan december och januari. Från januari ökades provtagningsfrekvensen från en gång per månad till var tionde till tolfte dag. Mellan januari och april fluktuerade nivåerna av alla tre parametrar. Då fisken hade avslutat sin ovulationsperiod, hade steroidnivåerna sjunkit under detektionsgränsen, medan vitellogeninnivån var låg (Fig. 3). Mönstret med fluktuerande steroid- och vitellogeninnivåer under ovulationsperioden var tydligt både i hela gruppen av fisk och i individuella honor (Fig. 4). De maximala nivåerna av estradiol-17 $\beta$ , testosterone och vitellogenin var jämförbara med nivåer som uppmätts i laxfisk (tabell 2) (46 ng estradiol-17 $\beta$ /ml, 66 ng testosterone/ml respektive 85 mg vitellogenin/ml).

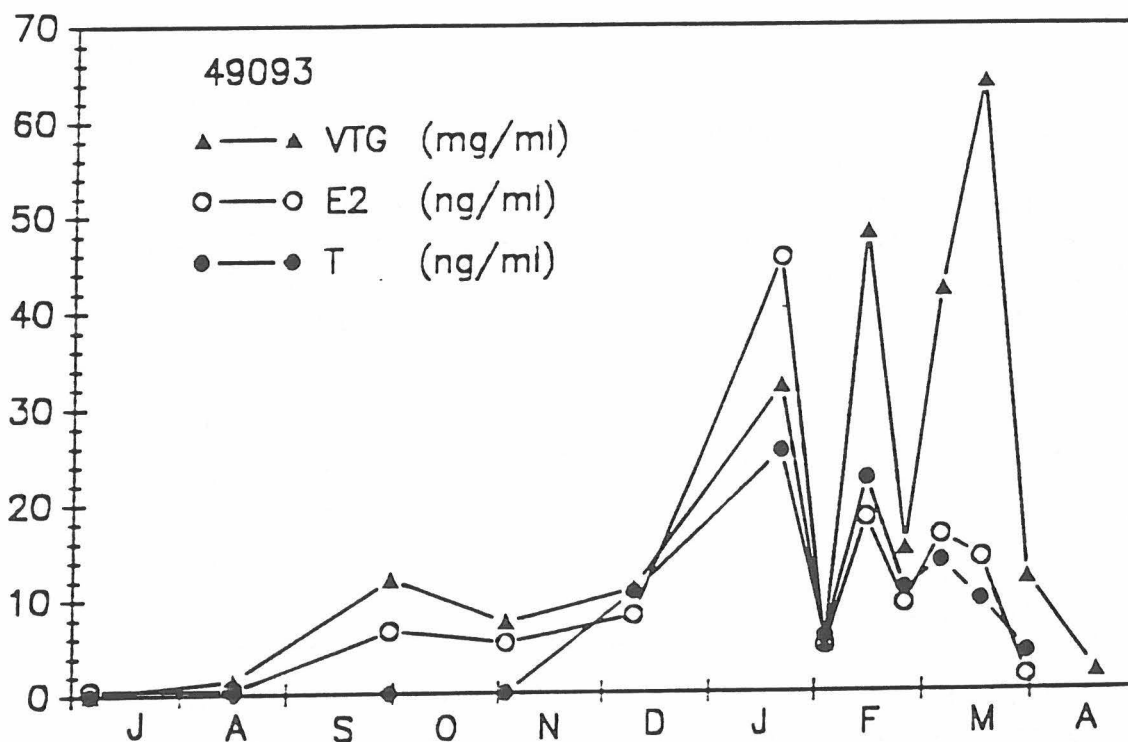
<b>Fiskart</b>	<b>VTG (mg/ml)</b>	<b>E2 (ng/ml)</b>	<b>T (ng/ml)</b>
Kveite	85	35	58
Öring, <i>Salmo trutta</i>	120	30	50

*Tabell 2. Högsta uppmätta nivåer av vitellogenin, estradiol-17 $\beta$  (E2) och testosterone (T) i kveite och öring, Salmo trutta. Värdena för öring är hämtade ur: Norberg et al., Changes in plasma vitellogenin, sex steroids, calcitonin and thyroid hormones related to sexual maturation in female brown trout, Salmo trutta; Gen. Comp. Endocrinol 75, 316-326 (1989).*

n=4	3	2	3	4	4	5	5	3	5	4	5	6	(VTG)
n=4	4	3	3	4	4	5	6	4	7	7	7		(E2 & T)



Figur 3. Årstidsvariationer i vitellogenin, estradiol-17 $\beta$  och testosteron i en grupp kveitehonor.



Figur 4. Årstidsvariationer i vitellogenin, estradiol-17 $\beta$  och testosteron i en individuell kveitehona. Fig. 3 och 4 från Methven D A et al., Seasonal reproduction and plasma levels of sex steroids and vitellogenin in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, In press

Efterföljande säsong upprepades blodprovstagningarna i stamfiskhonor, för att få en bättre uppfattning om steroidnivåerna i förhållande till ovulation. Samtidigt mättes de viktigaste omsättningsprodukterna (metaboliterna) av steroider, steroidsulfater och steroidglucuronider, för att belysa dessas omsättningshastighet och -mekanism. Nivåerna av estradiol-17 $\beta$  var lägst i ovulerande fisk, men ökade strax efter ovulationen. Nivåerna av estradiol-sulfat var låga i säsongen, vilket tyder på en låg omsättningshastighet. Det samma gällde för testosteroone respektive testosteronesulfat. Nivåerna av steroidglucuronider var mycket låga eller under detektionsgränsen, vilket tyder på att metabolisering av estradiol-17 $\beta$  och testosteroone i liten utsträckning sker via glucuronisering (påkoppling av kolhydrat), medan sulfatering ser ut att vara en mer använd omsättningsväg.

Utgångshypotesen i delprojektet var att oocyterna visar en synkron växt fram till slutmognad och att de därefter slutar att lagra in vitellogenin och portionsvis rekryteras till slutmognad. Plasmanivåerna av vitellogenin och estradiol-17 $\beta$  speglar oocyternas tillväxt. Resultaten från delprojektet tyder på att gonaderna växer till långsamt i början av hösten och att tillväxthastigheten ökar när reproduktionssäsongen närmar sig. Under ovulationsperioden varierar nivåerna av vitellogenin och estradiol, med flera toppar, som går till högre nivåer än före säsongen. Detta tyder på att oocyterna växer olika fort under denna period och att vissa oocyter är färdiga att gå in i slutmognad medan andra fortfarande växer till (se Fig. 6). Den eventuella betydelse detta har för rekryteringen av oocyter in i slutmognad diskuteras vidare under delprojekt 3, nedan. Nivåerna av testosteroone var tio gånger lägre än i laxfisk. Funktionen av testosteroone är oklar, både under vitellogenes och slutmognad. Under vitellogenesisen bibehåller kveite en hög kvalitet som matfisk. Testosteroone stimulerar tillväxt i somatisk muskulatur och under vitellogenesisen kan en möjlig funktion för denna steroid vara att "balansera" effekten av estradiol-17 $\beta$ , vilken stimulerar vitellogeninsynets i levern, på bekostnad av bland annat muskelprotein.

Under ovulationsperioden utsätts fisken för en avsevärd hanteringsstress, i samband med strykning. Stress har visat sig ge sänkta plasmanivåer av både estradiol, testosteroone och vitellogenin i de arter som studerats. Det finns all grund att anta att detsamma gäller för andra arter, även om effekt av stress på reproduktion i marin fisk är mycket ofullständigt utredd. Följden av hanteringsstress under ovulationsperioden kan alltså vara en minskad produktion av vitellogenin. Eftersom vitellogenin utgör huvudbeståndsdelen av den näring som larven behöver för sin utveckling, kan en minskad tillgänglighet av vitellogenin leda till en sämre utgångspunkt för de ägg som produceras under den senare delen av säsongen. Eventuella samband mellan stress och reproduktion i marina kallvattensarter behöver utredas närmare, men en slutsats man kan dra även från delprojekt 2, är att förhållandena för spontan reproduktion i kveite behöver utredas och tillrättaläggas, för att negativa följder av hanteringsstress ska kunna elimineras.

### **Delprojekt 3: Identifiering av steroider aktiva vid slutmognad av oocyter i kveite.**

Inkubering av mjölke med  $^3\text{H}$ - $\alpha$ -OH-progesterone visade att hannar av kveite syntetiserar 17 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -dihydroxyprogesterone (17,20 $\alpha$ -P).

Inkubering av ovarievävnad med  $^3\text{H}$ - $\alpha$ -OH-progesterone visade att det där produceras

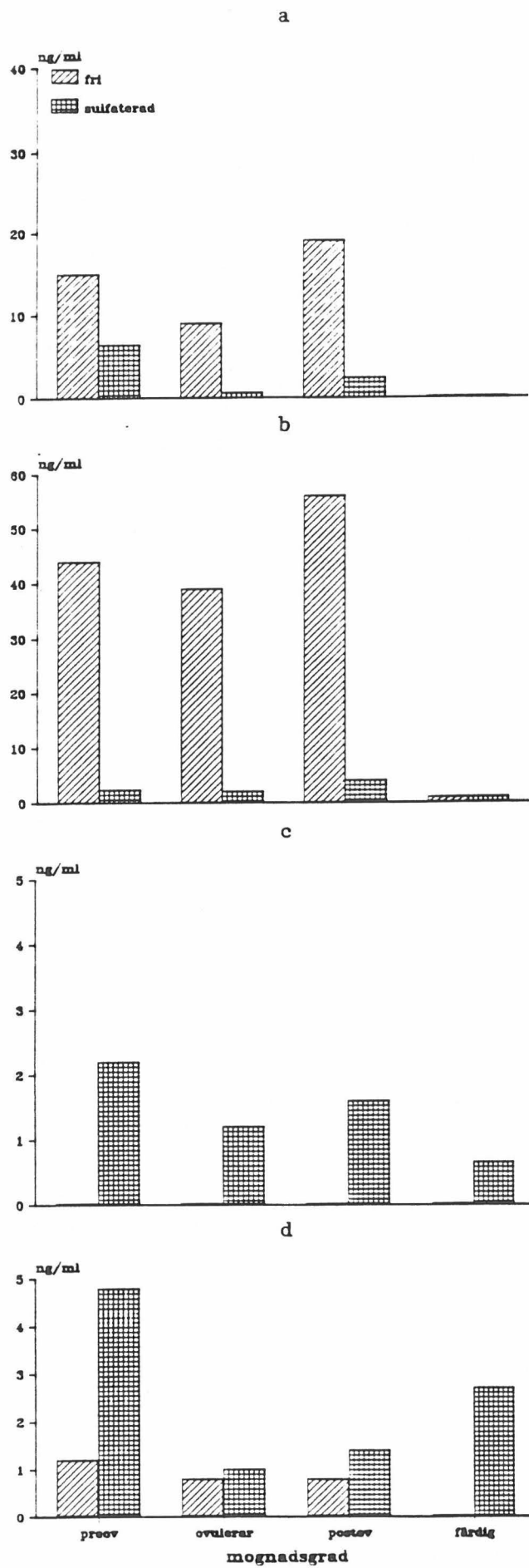


Fig. 5 Plasmanivåer av fri och sulfaterad a) estradiol-17 $\beta$ , b) testosterone, c) 17 $\alpha$ ,20 $\beta$ -(OH)<sub>2</sub>-4-pregnen-3-one och d) 11-deoxycortisol i köns mogna honor av kveite. Notera olik skala i a) och b) jämfört med c) och d).

estradiol-17 $\beta$ , testostosterone, 11-deoxycortisol samt små mängder av 17,20 $\beta$ -p och 17,20 $\alpha$ -P. Plasmanivåerna av dessa hormoner varierade med fiskens mognadsgrad (Fig. 5). Vidare var förhållandet mellan fri steroid och steroidsulfat varierande mellan olika steroider, vilket indikerar skillnader i omsättningshastighet mellan olika hormoner. Testostosterone ser ut att omsättas långsamt, medan 11-deoxycortisol och 17,20 $\beta$ -P omsätts snabbare (Fig. 5).

Resultaten från projektet ger en bild av vilka steroidhormoner som förekommer i kveite under ovulationsperioden, men det är svårt att dra några säkra slutsatser om deras funktion. Vidare försök med inkubering av oocyter i olika stadier, för att få en bättre bild av vilka steroider som syntetiseras vid vilken tidpunkt, liksom undersökning av effekten av de olika steroiderna på slutmognad och hydrering är nödvändiga. En sammanfattning av vad som är känt om reglering av växt och slutmognad av oocyter, baserad på resultaten i delprojekt 2 och 3 ges i figur 6.

Kveite ovulerar sina ägg i flera portioner under en säsong. De oocyter som går in i slutmognad och ovuleras ligger spridda i hela gonaden, omgivna av oocyter som först senare rekryteras till slutmognad. Orsaken till att en bestämd oocyt plötsligt mognar till ett ägg, medan de omgivande inte gör det är inte känd. Observationer av oocyter från kveite som är inne i sin ovulationsperiod visar att spridningen i storlek är relativt stor, något som också visats för torsk. Resultaten från delprojekt 2 tyder också på att åtminstone en del oocyter fortfarande är inne i vitellogenesis medan andra ovuleras. Diametern av oocyten skulle därmed kunna vara den faktor som avgör om den ska gå in i slutmognad eller inte. När en oocyt ska mogna, övergår de omgivande follikelcellerna från att producera estradiol-17 $\beta$  till att producera den steroid som inducerar de förändringar som sker vid slutmognad. Även om storleken på oocyten är en skenbart enkel signal, styrs hela processen med säkerhet av ett mycket komplicerat samspel mellan olika faktorer. Det saknas ännu mycket kunskap för att vi ska kunna beskriva hela förloppet. Fortsatt forskning på området är nödvändig också för en förbättrad stamfiskhantering och äggproduktion, i samband med att miljöbetingelserna läggs bättre tillräta.

#### **Delprojekt 4: Effekt av fotoperiod på tidpunkt för könsmognad i kveite**

Resultaten visar att fotoperioden har en avgörande effekt på tidpunkten för könsmognad i kveite. I alla de tre behandlade grupperna noterades en förskjutning i jämfört med kontrollgruppen. De första honorna blev könsmogna 1991, med undantag för en fisk i grupp 2 (komprimerad årscykel), som blev könsmogen hösten 1990. I kontrollgruppen blev honorna könsmogna vid normal tid, dvs februari till april. I gruppen som hade utsträckt fotoperiod blev två av fem honor könsmogna i september - oktober, medan de övriga tre inte blev könsmogna i projektperioden. Befruktningsbarheten av de ägg som kom ifrån denna grupp var emellertid låg. I grupp fyra, som fick en fotoperiod sex månader ur fas med kontrollgruppen, var samtliga fiskar könsmogna mellan augusti och oktober. På grund av olycklig fördelning vid försöksstart ingick bara två honor i denna grupp, men de gav bägge ägg med god befruktningbarhet (upp till 80%). Försök att inkubera och kläcka äggen misslyckades dock, på grund av för hög vattentemperatur i kläckeriet. I experimentgrupp 2 (komprimerad fotoperiod) var fyra av fem honor på väg att bli könsmogna och en hade ägg i oktober 1991. Ett vattenstopp ledde olyckligtvis till att fisken i denna grupp dog.

Konklusionen av delprojektet är att man utan stora problem kan förändra tidpunkten för könsmognad i kveite och att fotoperioden är av överordnad betydelse. Försöket har genomförts i alltför liten skala för att säkra slutsatser ska kunna dras om eventuella effekter av de komprimerade respektive utsträcka ljusregimerna. I den grupp som haft "normala" årstidsförändringar, sex månader ur fas med kontrollgruppen, hade äggen normal befruktningsbarhet och såg även i övrigt ut som helt normala kveiteägg. Delprojektets målsättning var att visa effekten av fotoperiod på tidpunkt för könsmognad. Möjligheten att inkubera och kläcka ägg begränsades av små resurser och alltför hög vattentemperatur. En vidareföring av resultaten måste anses intressant vid en industrialisering av kveiteodling, då de möjliggör en helårlig produktion av ägg och larver och därmed ger ett bättre utnyttjande av fasta installationer, och också en ökad säkerhet.

### **INFORMATION**

Projektets målgrupper var dels andra forskare, nationellt och internationellt, dels potentiella odlare av marin fisk.

Den första målgruppen har informerats dels genom publicering av projektresultat i internationella vetenskapliga tidskrifter, dels vid två vetenskapliga symposier (XIth International Symposium on Comparative Endocrinology. Malaga, Maj 1989 (poster) och 4th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, Norwich, UK, Juli 1991 (keynoteföredrag vid akvakultursessionen)). I tillägg har projektpresentationer gjorts nationellt vid NFFRs "Ny fisk-möten".

För den andra målgruppen har informationen dels kommit ut vid "Ny Fisk"-möten, dels i form av en populärvetenskaplig sammanfattning av projektets resultat, publicerad i Norsk Fiskeoppdrett nr 2A (1992). I tillägg fick resultatet från fotoperiodsförsöket stor uppmärksamhet med helsidesartiklar i både "Fiskaren" och i Bergens Tidende.

Med detta bör resultatpridningen från projektet vara säkrad för de båda brukargrupperna liksom för andra intresserade.

### **RESULTATUPPFÖLJNING**

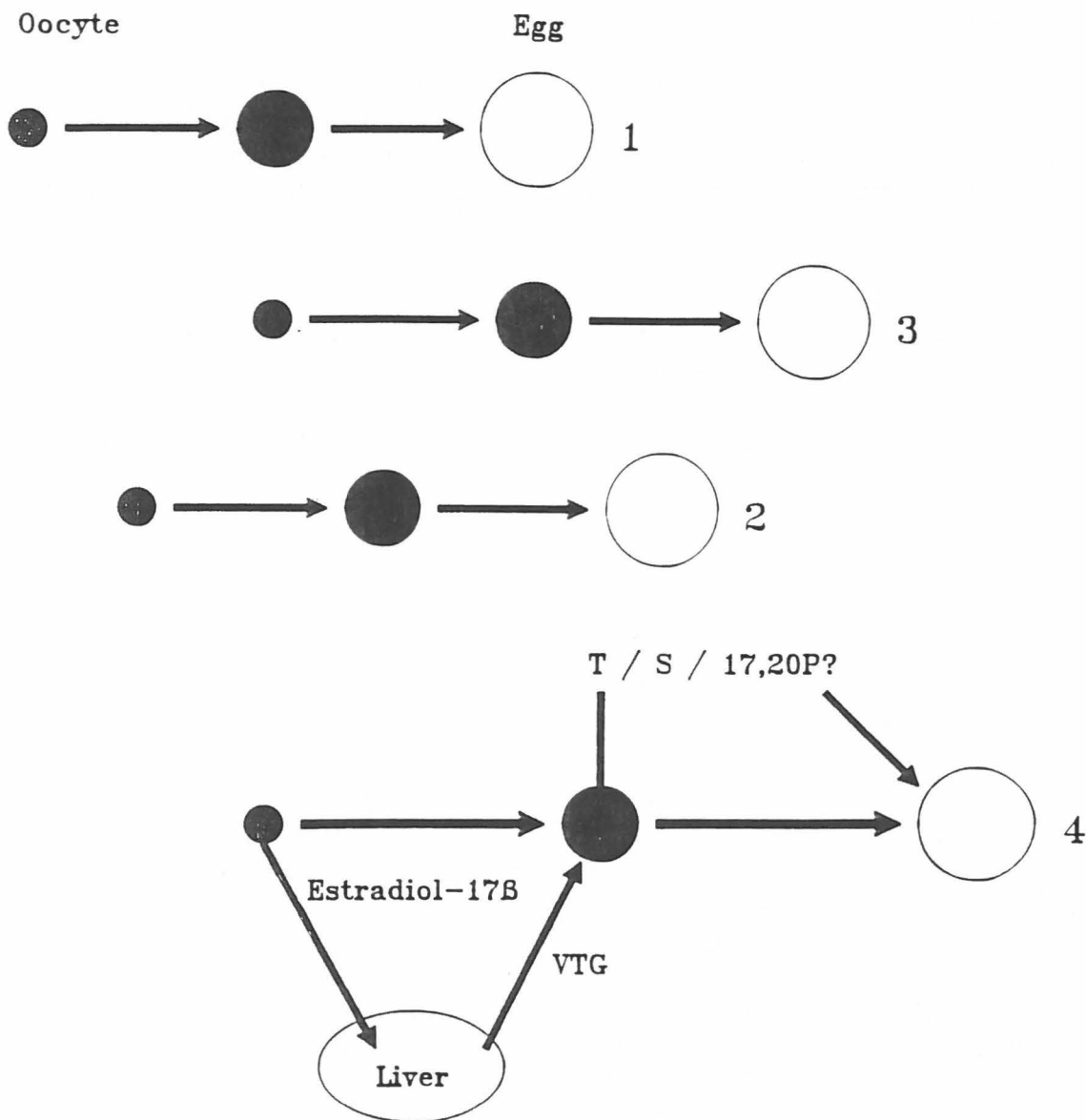
De samlade resultaten från projektet belyser behovet för vidare forskning inom fyra huvudområden:

1. *Vidareföring av grundläggande fysiologiska studier av växt och slutmognad i oocyter av marin fisk.*
2. *Effekter av stress på reproduktion i marin fisk.*
3. *Utveckling av system, samt definiering av nödvändiga betingelser för spontan reproduktion i kveite.*

4. Uppskalering och vidare studier av styrd könsmognad med hjälp av manipulering av fotoperiod i marin fisk.

Denna vidareföring sker i första hand för punkt 1 och punkt 4. Delvis kommer detta att äga rum inom ramen för det av NFFR finansierade projektet "Vekst og kjønnsmodning hos kveite og torsk" och delvis i ett Norsk-Isländsk-Svenskt samarbetsprojekt, finansierat av Nordisk Industrifond och Nordiska Ministerrådet, "Industriell produktion av hälleflundra, torsk och fläckig havskatt".

På sikt är det också angeläget att punkterna 2 och 3 prioriteras. Forskning inom dessa områden är helt avgörande för möjligheten av en effektiv stamfiskhantering och en lönsam äggproduktion i kveite.



Figur 6. En sammanfattning av den kunskap som projektet har gett om växt och slutmognad i oocyter av kveite.

## RAPPORTER OCH PUBLIKATIONER I PROJEKTPERIODEN

- Norberg B (1989) Vitellogenesis in salmonid fish. Doktorsavhandling, Göteborgs Universitet, Sverige.
- Norberg B, B Th Björnsson, C L Brown, L J Deftos, U P Wichardt & C Haux (1989) Changes in plasma vitellogenin, sex steroids, calcitonin and thyroid hormones related to sexual maturation in female brown trout (*Salmo trutta*). Gen. Comp. Endocrinol. 75(2):316-326.
- Norberg B, Valkner V, Huse J, Karlsen I and Lerøy Grung G (1991) Ovulatory rhythms and egg viability in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture 97(4): 365-371.
- Norberg B & O S Kjesbu (1991) Reproductive physiology in coldwater marine fish: Applications in aquaculture. In: Scott A P, Sumpter J P, Kime D E and Rolfe M S (Eds.): Reproductive Physiology of Fish, Proceedings from the 4th international symposium on reproductive physiology of fish, Norwich, UK, Juli 1991. pp 239-244.
- Methven D A, Crim L W, Norberg B, Brown J A, Goff G P and Huse I (1992) Seasonal reproduction and plasma sex steroid and vitellogenin levels in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. *In press*.
- Norberg B (1992) *In vivo* ovarian incorporation of vitellogenin in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Submitted.
- Norberg B (1992) Reproduksjonsbiologi i kveite - kunnskap og anvendelse i akvakultur. Norsk fiskeoppdrett 2A, pp 8-10.
- Norberg B (1989) Vitellogenin levels in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) at various stages of development. Poster. XIth International Symposium on Comparative Endocrinology. Malaga, Maj 1989.
- Hjartarsson S V, B Th Björnsson, E Moksness & B Norberg (1991) Induction of vitellogenin synthesis in juvenile striped wolffish (*Anarhicas lupus*). In Scott A P, Sumpter J P, Kime D E and Rolfe M S (Eds.): Reproductive Physiology of Fish, Proceedings from the 4th international symposium on reproductive physiology of fish, Norwich, UK, Juli 1991.
- Kjesbu O S & B Norberg (1991) Oocyte growth in spawning Atlantic cod, *Gadus morhua*. In Scott A P, Sumpter J P, Kime D E and Rolfe M S (Eds.): Reproductive Physiology of Fish, Proceedings from the 4th international symposium on reproductive physiology of fish, Norwich, UK, Juli 1991.
- Norberg B (1989) Reproduktionsfysiologi och endokrinologi i honfisk. Föredrag. I:



Holm JC (Ed.) Referat fra Plenumsmöte i Ny Fisk, Kokstad 7-8 november  
1988: 10-11. Ny Fisk Rapport 1/89.

Norberg B (1989) Kontroll av reproduktion och äggkvalitet i marin fisk. Föredrag. I:  
Ny Fisk Rapport L 6/89.