



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

NMBU Veterinærhøgskolen  
Institutt for parakliniske fag (PARAFAG)  
Faggruppe for akvamedisin

Fordypningsoppgave 2020, 20 stp

Fordypning i akvamedisin

# **Produksjon av Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) og viktige utfordringer innen miljø, infeksjonssykdommer og genetikk**

Production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and  
important challenges regarding environment, infectious  
diseases and genetics

Josefin Bénden  
William Reed  
Malin Slettebø  
Ingeborg Sørensen Stene  
Kull 2015

Veileder: Øystein Evensen

## **Innholdsfortegnelse**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Sammendrag.....</b>                        | <b>5</b>  |
| <b>Definisjoner og forkortelser.....</b>      | <b>7</b>  |
| <b>Innledning.....</b>                        | <b>9</b>  |
| <b>Materiale og metoder.....</b>              | <b>10</b> |
| <b>Metoder.....</b>                           | <b>10</b> |
| <b>Materiale .....</b>                        | <b>10</b> |
| <b>Tilapiaproduksjon globalt .....</b>        | <b>12</b> |
| Tilapia produsert i akvakultur .....          | 13        |
| <b>Markeder for tilapia.....</b>              | <b>16</b> |
| Det nordamerikanske markedet .....            | 19        |
| Det europeiske markedet .....                 | 21        |
| <b>Ulike produksjonssystemer.....</b>         | <b>24</b> |
| Semi-intensivt oppdrett.....                  | 26        |
| Intensivt oppdrett .....                      | 36        |
| <b>Miljø.....</b>                             | <b>43</b> |
| Tilpasning til mange ulike miljøforhold ..... | 43        |
| <b>Miljøkrav.....</b>                         | <b>44</b> |
| Temperatur .....                              | 44        |
| Salinitet.....                                | 48        |
| Akklimatisering.....                          | 50        |
| Oksygenmetning/oppløst oksygen (DO).....      | 51        |
| Ammoniakk .....                               | 53        |
| Nitritt .....                                 | 55        |
| pH .....                                      | 56        |

|  |            |
|--|------------|
| Alkalinitet og hardhet .....   | 58         |
| Fotoperiode.....   | 58         |
| Vannturbiditet.....  | 61         |
| Sammenligning av miljøutfordringer i semi-intensive og intensive produksjonssystemer ..... | 63         |
| <b>Infektionssjukdomar .....</b>   | <b>65</b>  |
| <b>Bakterier .....</b>   | <b>65</b>  |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> .....  | 65         |
| <i>Streptococcus iniae</i> .....   | 69         |
| <i>Aeromonas hydrophila</i> .....  | 71         |
| <i>Flavobacterium columnare</i> .....  | 74         |
| <i>Edwardsiella tarda</i> .....  | 77         |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....   | 79         |
| <i>Vibrio vulnificus</i> .....   | 82         |
| <i>Mycobacterium marinum</i> .....   | 85         |
| <b>Virus.....</b>  | <b>90</b>  |
| TiLV - Tilapia lake virus.....   | 90         |
| ISKNV – <i>Iridovirus</i> (Megalocytivirus) .....  | 94         |
| <b>Parasiter.....</b>  | <b>97</b>  |
| <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> .....  | 98         |
| <i>Trichodina sp.</i> .....  | 100        |
| <i>Dactylogyrus sp.</i> .....  | 102        |
| <b>Svampliknande infektioner .....</b>   | <b>104</b> |
| Saprolegniasis.....  | 104        |
| <b>Genetikk.....</b>   | <b>108</b> |
| Seleksjonsavl .....  | 108        |
| Tidlig kjønnsmodning.....  | 109        |

|  |            |
|--|------------|
| Manuell kjønnsinndeling .....                        | 110        |
| Hormonbehandling.....                                | 111        |
| Marker-assisted selection (MAS) .....                | 111        |
| YY supermale.....                                    | 112        |
| Krysningsavl/hybridisering.....                      | 113        |
| Transgen teknologi .....                             | 115        |
| Genome-editing technology .....                      | 119        |
| GIFT (genetically improved farmed tilapia) .....     | 120        |
| Triploiditet .....                                   | 121        |
| Gynogenese og androgenese.....                       | 122        |
| Kuldetoleranse .....                                 | 122        |
| Sykdomsresistens .....                               | 123        |
| <b>Andre utfordringer i sammenheng med avl .....</b> | <b>124</b> |
| Tilgang på genetisk materiale og eggproduksjon.....  | 124        |
| Seleksjon av stamfisk.....                           | 126        |
| Artsmangfold.....                                    | 126        |
| Andre utfordringer .....                             | 128        |
| <b>Takk til bidragsytere .....</b>                   | <b>130</b> |
| <b>Summary.....</b>                                  | <b>130</b> |
| <b>Referanseliste .....</b>                          | <b>132</b> |

## Sammendrag

*Tittel:* Produksjonen av Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) og de viktigste utfordringene innen miljø, infeksjonssykdommer og genetikk

*Forfattere:* Josefin Bendén, William Reed, Malin Slettebø og Ingeborg Sørensen Stene

*Veileder:* Øystein Evensen, Institutt for parakliniske fag (PARAFAG)

Ekspansjonen av tilapiaindustrien har resultert i en rekke utfordringer som i dag begrenser produksjonen globalt. Tilapia er den mest utbredte oppdrettsfisken i verden samtidig som produksjonsformene er veldig varierte og kan tilpasses den enkelte oppdrettters ressurser. Derfor finner man alt fra hageoppdrett til høyteknologisk, kommersiell tilapiaproduksjon rundt om i verden. I tillegg til å være en oppdrettsfisk som i all hovedsak forsyner interne markeder i utviklingsland har det også vokst fram et betydelig internasjonalt marked for tilapiaprodukter. De semi-intensive produksjonssystemene bidrar til 90% av all oppdrettet tilapia globalt og tilnærmet 82,6% produseres i ferskvann. Produksjonsforholdene preges derfor i stor grad av værforhold og viktige miljøutfordringer er oksygenmetning i vannet, riktig gjødsling, dammens dybde og utforming, ammoniakk- og nitritkonsentrasjoner, pH, alkalinitet og vannturbiditet. Bakterier, virus, parasitter og soppliknende infeksjoner har blitt en større utfordring for produksjonen av Nile tilapia globalt. Økt biomasse, høyt smittepress, intensive produksjonsformer, stress, lengre transporter, mer håndtering, dårlig vannkvalitet og antibiotikaresistens er faktorer som øker mottakeligheten for infeksjoner.

Det er flere utfordringer innen produksjonen av tilapia, blant annet tidlig kjønnsmodning da dette medfører nedsatt og varierende vekst. Det finnes ulike genetiske metoder og moderne

teknikker som kan brukes for å møte utfordringene. Imidlertid vil blant annet økonomi og tilgjengelighet på metodene påvirke om disse blir tatt i bruk. Dette gjelder særlig for de som produserer tilapia til eget eller lokalt konsum i utviklingsland.

## Definisjoner og forkortelser

**Akrofase** - Tidsperioden i en syklus hvor måling av sirkadisk mønster eller biologisk rytme når høyeste punkt

**All-male/female** - populasjon med kun hannkjønn/hunnkjønn

**Aquaponic systems** – En kombinasjon av plante- og akvakulturproduksjon hvor bakterier som bor rundt plantenes røtter fungerer som et biofilter og tar opp avfallsstoffer fra fisken slik at vannkvaliteten blir bedre og plantene får tilgang på næringsstoffer (El-Sayed, 2020)

**Biofloc technology** – En teknologi som bygger på en symbiose mellom akvatiske dyr, heterotrofe bakterier og andre mikroorganismer for å gi bedre vannkvalitet, behandle avfallsstoffer og forebygge sykdom (El-Sayed, 2020)

**CBI** – the Centre for the Promotion of Imports from developing countries

**Eksternt marked** – Et marked som ligger utenfor landegrensene til produksjonslandet og som da består av produkter som produseres over landets eget behov eller etterspørsel og kan eksporteres

**FAO** = Food and Agriculture Organization of the United Nations = FNs organisasjon for ernæring og landbruk

**GIFT** - Genetically Improved Farmed Tilapia

**Green Water Tank** – Et intensivt oppdrettssystem hvor blant annet nitrifiserende bakterier, tilsetning av oksygen og kontinuerlig fjerning av avfallsstoffer gir økt primærproduksjon i produksjonsenheterne samtidig som det brukes minimalt med vann (El-Sayed, 2020)

**Hepatisk IGF-I** - Hepatic Insulin like Growth Factor-I

**Internt marked** – Et marked som ligger innenfor landegrensene til produksjonslandet og som gjenspeiler behovet eller etterspørselen i landet for det aktuelle produktet

**MAS** – Marker Assisted Selection

**Nile tilapia** – *Oreochromis niloticus*

**Osmolaliteten** - et mål på osmotisk trykk i en løsning

**PlommeseKKlarve** = Yolk sac larvae

**RAS** = Recirculating Aquaculture System = Resirkuleringsanlegg

**Seed production** - eggproduksjon

**TelangiektaSi** - utvidelse av små blodkar

**USD** – Amerikanske dollar

**Yngel** = Swim up fry = fry

## Innledning

Tilapia er en gruppe ferskvannsfisk, og produksjonen av denne i akvakultur startet i Afrika for ca. 50 år siden og har eksplodert i løpet av de siste 20 årene. I dag foregår det produksjon i over 125 land over hele verden hvor Kina, Indonesia, Egypt, Bangladesh og Brasil er de største produsentene. Produksjonen har gått fra 28 260 tonn i 1970 til 5 880 586 tonn fisk per år i 2017. Dette har medført utfordringer for industrien. Den viktigste tilapia-arten er Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Den blir beskrevet som tolerant overfor mange ulike agens, miljøer, vannkvaliteter og stress. Den har også store fordeler innenfor genetikken, med kort generasjonsintervall og hurtig tilvekst. På grunn av sin lave produksjonskostnad og høye motstandskraft mot infeksjonssykdommer og miljøforandringer har tilapia blitt en viktig kilde til mat, infrastruktur og jobb for mennesker i utviklingsland. Samtidig som den ekspanderende produksjonen har bidratt til økt levestandard for millioner av mennesker, innebærer dette også utfordringer for fiskens helse og velferd, noe som har resultert i høyere dødelighet og dårligere produksjonsresultater i løpet av de siste årene (El-Sayed, 2020). Litteraturgjennomgangen har som mål å belyse utfordringer innenfor teamene produksjonssystemer, oppdrettsmiljø, infeksjonssykdommer og genetikk hos Nile tilapia i et globalt perspektiv. Gjennomgangen kan følges opp med videre studier om hvordan de nevnte utfordringene kan håndteres og videre bedre forutsetningene for fiskens helse og miljø.

# Materiale og metoder

## Metoder

Vi har søkt etter aktuelle artikler, nettsider og bøker via biblioteksbasen Oria, Google, Google Scholar, Semantic Scholar, ResearchGate, PubMed og manuell leting ved NMBUs bibliotek på Adamstuen. Det ble både brukt sekundærkilder og primærkilder, vi har søkt opp en del primærkilder som det er referert til i boken «Tilapia Culture» (El-Sayed, 2020). Søk etter artikler på de ulike søkemotorene ble gjort med følgende enkeltord og kombinasjoner: «tilapia», «Nile tilapia», «tilapia production», «Oreochromis niloticus», «tilapia genetics», «tilapia environmental conditions», «GIFT», «infectious diseases Nile tilapia», «tilapia production systems», «tilapia semi-intensive», «semi-intensive production systems», «intensive production systems», «tilapia intensive production systems», «tilapia salinity», «tilapia water temperature», «tilapia temperature», «tilapia ammonia», «tilapia habitat diversity», «transgenic», «triploidy», «selective breeding» og «MAS».

Deretter ble all litteratur gjennomgått, og det ble lagt vekt på artikler som var fagfellevurdert samtidig som de nyeste publiserte artiklene ble prioritert.

## Materiale

Utvælte bøker til denne fordypningsoppgaven

- Boyd, C. E. (2015). Water quality. Cham: Cham: *Springer International Publishing AG.*
- Buller, N. (2004). Bacteria and fungi from fish and other aquatic animals: a practical identification manual. *Department of Agriculture and Food Western Australia*. 2.

- El-Sayed, A.-F. M. (2020). Tilapia Culture. 2 utgave utg.: *Academic Press Elsevier*.
- El-Sayed, A.-F. M. (2006). Tilapia Culture. *Wallingford*: CABI. 1.
- Pillay, T. V. K. M. N. (2005). Aquaculture Principles and Practices 2 utg. *Brackwell Publishing Ltd.*

Vi har begrenset oss til produksjonssystemer, miljø, infeksjonssykdommer og genetikk innenfor tilapiaoppdrett. Til sammen ble det valgt ut 170 publiserte artikler og disse ble sett nærmere på og kryssreferert opp mot hverandre og de nevnte bøkene. Det er hentet artikler fra 1985 til 2020, men de aller fleste er hentet fra etter år 2003. Tilapiaoppdrett har endret seg mye siden 2000 og dermed er nyere artikler mer oppdaterte og relevante enn tidligere utgitte artikler. Globalt sett er tilapiaoppdrett spredt rundt på de ulike kontinentene og dermed var det ikke så viktig hvilket land publikasjonene var fra. Artiklene som er brukt er publisert fra mange forskjellige land i hele verden og en stor andel av publikasjonene er fra asiatiske land. Det er mange artikler publisert fra Egypt og Brasil som er benyttet i infeksjonssykdommervellen. Det er benyttet 39 nettsider som blir referert til i denne oppgaven, i tillegg er tidligere undervisningsmateriell fra NMBU brukt 3 ganger.

## Tilapiaproduksjon globalt

Tilapia produsert for konsum kommer overordnet fra to kilder: varierende former for fangstfiske og produksjon fra ulike akvakultursystemer (El-Sayed, 2020). Det er vanskelig å vite nøyaktig hvor mange land som produserer tilapia, men det reelle tallet ligger sannsynligvis i intervallet mellom 125 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020b) og 140 (Mapfumo, 2018).

Afrikanske land dominerer fiske av tilapia og bidro til 61,7% av den globale fangsten i 2017. Til sammenligning ble 23% fisket i Asia og 14,5% i Sør-, Mellom- og Nord-Amerika samme året. Det er Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) som er den mest betydningsfulle tilapia-arten som fiskes, og den utgjorde alene 33,3% av kommersielle fiskerier i 2017. Denne prosentandelen er basert på telling av de artene som faktisk ble identifisert, noe de fleste tilapia som fiskes ikke blir. Andelen Nile tilapia som fiskes i forhold til andre er derfor svært usikker (El-Sayed, 2020).

Den globale tilapiaproduksjonen totalt (både fra kommersielle fiskerier og fra akvakultur) var i 2018 på 6 882 202 tonn. Land i Asia og Afrika stod for henholdsvis 63,1% og 26,3% av den totale produksjonen. De tre største landene i verden som produserer tilapia er Kina (23,61% av total produksjon), Indonesia (18,76%) og Egypt (17,04%). Tar man også med Bangladesh (5,01%), Brazil (4,94%) og Filipinene (4,67%) stod disse landene samlet for 74,03% eller nesten 2/3 av total produksjon i 2018 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020b).

USA hadde en total tilapiaproduksjon i 2018 på 6 548 tonn som utgjorde beskjedne 0,11% av den globale produksjonen. I Monterey Bay Aquarium sin rapport «Seafood Watch»

(Zajdband, 2012) står det at mesteparten av den amerikanske produksjonen skjer i resirkuleringsanlegg i sørlige stater som California, Arizona, Idaho, New Mexico og Sør Carolina.

Europa sin produksjon var på 279 tonn i 2018 og utgjorde da så å si ingenting globalt. Historisk har Nederland og Belgia vært de største europeiske produsentene av tilapia, men per 2013 hadde all produksjon der opphört. I 2013 lå det største europeiske anlegget i Polen med en kapasitet på 1 300 tonn. Både resirkuleringsanlegg og gjennomstrømmingsanlegg har blitt brukt til tilapiaproduksjon i Europa (Falch, 2013).

Produksjonen i Europa og USA i 2018 kommer utelukkende fra akvakultur (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020b). Ellers merket vi oss at informasjon om produksjon i både USA og Europa er lite tilgjengelig både i faglitteraturen og i andre kilder på internett. Dette gjelder spesielt for oppdatert informasjon da de kildene vi fant var fra 2012 (Zajdband, 2012) og 2013 (Falch, 2013).

### **Tilapia produsert i akvakultur**

Ser vi på akvakultur på tvers av alle fiskearter er Asia dominerende med 88,69% av den globale produksjonen på 54 279 000 tonn i 2018. Innenfor Asia var Kina det største produsentlandet med en produksjon på 57,93% av total produksjon av akvakulturfisk. Europa produserte 3 082 600 tonn oppdrettsfisk i 2018 (3,75% av global total). Norge produserte 1 354 900 tonn av disse samme året (1,65% av global total). Det er nesten like mye som alle EU-landene til sammen som produserte 1 364 400 tonn og utgjorde 1,66% av verdens oppdrettsfiskproduksjon i 2018 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020a).

Samlet tilapiaproduksjon i Afrika er stor (21,83% av global tilapiaproduksjon i 2018), men produksjonen er liten når alle oppdrettsarter inkluderes – totalt 2 195 900 tonn eller 2,67% av global akvakulturproduksjon. Egypt er det største afrikanske oppdrettslandet med en produksjon i 2018 på 1 561 500 tonn eller 1,90% av global produksjon (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020b).

Nord-, Sør, -og Mellom Amerika var i samme situasjon som Afrika i 2018 med hensyn på at de var større på oppdrett av tilapia (9,31% av global total tilapiaproduksjon) i 2018 enn de var da alle arter ble inkludert – da var deres produksjon på 3 799 200 tonn eller 4,63% av global akvakulturproduksjon totalt (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020b).

Mellan 1950 og 2018 økte den globale totalproduksjonen av tilapia fra 69 710 til 6 882 202 tonn, ca. 100 gangers økning, og tilapia fra akvakultur stod for mesteparten av denne økningen (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020b). I år 2000 ble det produsert 1 019 000 tonn tilapia i akvakultur mens i 2018 hadde produksjonen steget til 6 031 000 tonn. I samme periode steg prosentandelen av tilapia som kom fra oppdrett sammenlignet med fiske fra 63,6% til 87,6% (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020b).

Akvakultur av tilapia foregår i ferskvann, saltvann og brakkvann da tilapia tolererer både fersk- og saltvann. Allikevel er det oppdrett i ferskvann som er vanligst og 82,6% av tilapiaoppdrett i 2017 var i ferskvann. Nile tilapia er den dominerende arten i oppdrett og

utgjorde i 2017 rundt 80% av tilapia-artene som fantes i ulike oppdrettsystemer (El-Sayed, 2020).

Hvis vi deler inn bidrag til total tilapiaproduksjon fra akvakultur etter kontinent er Asia størst med en produksjon på 4 151 658 tonn som utgjorde 68,83% av den globale totalen i 2018. Afrika fulgte etter med 1 316 409 tonn (21,83%) og på en tredje plass var Nord-, Sør, - og Mellom Amerika med 561 540 tonn (9,31%) (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020b).

Landene Kina, Indonesia, Egypt, Bangladesh og Brazil stod for 75,61% av den globale akvakulturproduksjonen av tilapia i 2018, og Kina alene produserte 26,93% av totalen. Samtidig er det verdt å merke seg at Kinas produksjon ikke vokste så mye som i de andre landene i perioden mellom 2010 og 2018. (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020b).

Tabell 1: Oppsummering av bidrag fra noen produksjonsområder

| Produksjonsområde | Tilapia fra fiske i 2018 (tonn) | Tilapia fra akvakultur i 2018 (tonn) | Total tilapiaproduksjon i 2018 (tonn) | Andel av global totalproduksjon i 2018 (%) |
|-------------------|---------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--|
| Asia              | 191 140                         | 4 151 658                            | 4 342 798                             | 63,10                                      |
| Afrika            | 492 679                         | 1 316 409                            | 1 809 088                             | 26,29                                      |
| USA               | 0                               | 6 548                                | 6 548                                 | 0,11                                       |
| Europa            | 0                               | 279                                  | 279                                   | 0  |

### ***Sammenligning av tilapia mot andre oppdretsarter***

Det ble produsert 10 492 500 tonn av artene gresskarpe (*Ctenopharyngodon idellus*) og sølvkarpe (*Hypophthalmichthys molitrix*) i 2018. Gresskarpe var øverst på listen over de 20 største oppdrettsartene i verden med 5 704 000 tonn produsert (10,5% av total global

produksjon) og produksjonen av sølvkarpe var på 4 788 500 tonn (8,8%). Til sammen stod disse to karpefiskene for 19,3% av all akvakulturproduksjon i 2018. Flere karpearter står også på denne listen: karpe (4 189 500 tonn), marmorkarpe (3 143 700 tonn) og svart karpe (691 500 tonn). Nile tilapia lå på en tredje plass med en produksjon på 4 525 400 tonn i 2018 eller 5,8% av den globale akvakulturproduksjonen. Den globale produksjonen av alle tilapia-arter fra akvakultur i 2018 var som nevnt på 6 031 000 tonn og Nile tilapia alene utgjorde over 75% av dette (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020a).

En av Norges viktigste eksportvarer, atlantisk laks, lå på niende plass over de 20 største oppdrettsartene i 2018. Det året var produksjonen av atlantisk laks på 2 435 900 tonn globalt eller 4,5%. Det er 2 089 500 tonn mindre eller omtrent halvparten (1,86 ganger mindre) av global produksjon av Nile tilapia det året. Sammenligner vi oppdrett av alle tilapia-arter opp mot laks er det på 3 595 000 tonn mer eller nesten 2,5 ganger så mye (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020a).

Regnbueørret, en annen viktig oppdrettsart for Norge, lå på plass 15 av 20 på nevnte liste. Det ble produsert 848 100 tonn i 2018 (1,6% av total global produksjon) (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020a).

## **Markeder for tilapia**

Det ble estimert at det ble solgt tilapia for mer enn 12 milliarder amerikanske dollar (USD) i 2018 (Mapfumo, 2018). Tilapia som når markedet har ofte en vekt på 600-900 gram og bruker 6-9 måneder på å nå denne vekten (Yue et al., 2016). Her har vi sett litt forskjellige tall i litteraturen, og det er nok fisk utenfor det nevnte vektintervallet som også havner på

markedet. Den største fisken havner i dyrere markeder mens liten fisk ofte går inn i billigere markeder (Josupeit, 2004).

En kan dele det globale tilapiemarkedet inn i to hovedkategorier: «billig tilapia» og «premium tilapia». Sistnevnte kategori er som regel fersk fisk som er mer spisset, eksempel mer miljøvennlig, med lavt forbruk av antibiotika eller høy kvalitet på emballasjen. Premiummarkedet utgjør en liten del av det totale markedet (El-Sayed, 2020).

Tilapia produseres og spises flere steder i verden enn noen annen fiskeart og det finnes en etterspørsel i alt fra vestlige land til fattige samfunn i utviklingsland. Dette gjør at markedet for tilapia er mer heterogent enn for eksempel markedet for laks. Et heterogent marked er et marked der det finnes mange ulike kjøpere med hensyn til faktorer som for eksempel inntekt og sosial status (Finansleksikonet, 2020). Mer enn 95% av tilapia fra akvakultur ble produsert i utviklingsland i 2009 (Norman-López and Bjørndal, 2009a). Ser vi på FAO sine tall ble 99,27% av tilapia fra akvakultur produsert i utviklingsland i år 2000, og i 2018 var andelen 99,89% (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020b). Det skjer en eksport av tilapia til mer enn 130 land og i 2015 ble 472 000 tonn eksportert hvor 259 000 tonn var i form av frossen fillet og 172 000 tonn som frossen hel fisk (El-Sayed, 2020).

Den store variasjonen i produksjonsmiljøer- og metoder gir også ulikheter med tanke på produktkvalitet og produksjonskostnader slik at markedet for tilapia blir segmentert. Segmentering i markedssammenheng betyr en inndeling i flere delmarkeder hvor forbrukerne eller kundegruppen i hvert delmarked har felles behov (Wikipedia, 2016). Ulike produsenter har forskjellig kostnadsnivå avhengig av kvaliteten på det produktet de leverer. Tilgangen på det globale markedet for tilapia begrenses av utfordringer med transport og mattrygghet som

fremmer at hver produsent produserer for spesifikke markeder fremfor å kunne ekspandere til et høy-pris marked. Dette er faktorer som kan bidra til segmenteringen av tilapiemarkedet (Norman-López and Bjørndal, 2009a).

Ifølge artikkelen «The global market for tilapia – one or several» (Norman-López and Bjørndal, 2009a) kan man overordnet dele det globale markedet for tilapia inn i markedet for industrialiserte land og markedet for utviklingsland. Markedene i industrialiserte land har høye krav i forhold til mattryyggheten og krever kvalitetsstandarder etter HACCP-systemet (Hazard Analysis and Critical Control Point), noe som stort sett ikke kreves i utviklingsland. Derfor vil også valg av produksjons- og driftsmåte bestemme hvilket av disse markedene produsentene har tilgang til. Det at 95% av tilapiaproduksjonen per 2009 foregikk i utviklingsland betyr at relativt få av produsentene hadde tilgang til mer lukrative markeder i vesten (Norman-López and Bjørndal, 2009a).

### ***Sammenligning med laksemarkedet***

I 2018 var verdien på det globale markedet for atlantisk laks på 18 milliarder USD (Holmyard, 2019). Det er 6 milliarder mer enn markedsverdien til tilapia det samme året på tross av at det ble produsert omrent 2,5 ganger så mye tilapia som atlantisk laks i 2018.

Spesielt Norge, Island og Færøyene eksporterer det meste av laksen sin internasjonalt. I 2019 produserte disse landene 1 300 000 tonn laks og hadde et internt marked på bare 45 000 tonn som utgjorde omrent 3,5% av produksjonen. Resten ble eksportert til store og viktige markeder i USA, Europa og Asia. Sør-Amerika og Oseania var også i den situasjonen at de produserte mer laks til eksterne marked enn til deres egne markeder. Nord-Amerika, EU, Russland og Asia har derimot en relativt liten lakseproduksjon sammenlignet med intern etterspørsel og de utgjør derfor viktige eksportmarkeder for laks (Mowi, 2020).

For tilapia går mer enn 90% av produksjonen til interne markeder. De interne markedene i tilapiaproduserende land består hovedsakelig av fattige lokalsamfunn. Til og med Kina, som er den største produsenten av tilapia og eksporterer til flere internasjonale markeder, hadde et lokalt forbruk på hele 78,9% av tilapiaproduksjonen sin i 2016 (El-Sayed, 2020).

Selv om store mengder av tilapiaproduksjonen går til lokale markeder har internasjonal eksport av tilapia til industrialiserte land økt fordi etterspørselen har økt (Norman-López and Bjørndal, 2009a). Selv om etterspørsel og eksport til vesten øker betyr ikke det at vi vil se en utvikling hvor en viktig proteinressurs for utviklingsland omdirigeres til vesten. Det er fordi tilapia som selges på lokale markeder ikke er mulig å selge i vesten da de typisk er små og veldig varierende kvalitetsmessig. Fisken som eksporteres har derimot en jevn kvalitet, størrelse, farge og tekstur (Josupeit, 2004).

### **Det nordamerikanske markedet**

Det nordamerikanske markedet er det viktigste internasjonale markedet for tilapia (Norman-López, 2009). I 2015 var markedsverdien på 962 millioner USD med en kantitet på 215 585 tonn (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018). I 2018 var verdien 757 971 000 USD og en kantitet på 186 055 tonn. Etterspørselen i USA er altså synkende, men stod likevel for omtrent halvparten (50,55%) av den totale tilapiaimporten i verden i 2018 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020b).

De tre hovedproduktene av tilapia som importeres til USA er fersk fillet, frossen fillet og helfrosset fisk. Helfrossen fisk og frossen fillet blir importert hovedsakelig fra asiatiske land, mens fersk fillet stort sett importeres fra Sør- og Mellom-Amerika. Årsakene til dette er ifølge Norman-López (Norman-López, 2009) geografisk og økonomisk betinget. Sør- og Mellom-

Amerika ligger nærmere USA og kan eksportere til USA raskere og billigere enn land i Asia. De asiatiske landene har et konkurransefortrinn i at de har lavere investeringskostnader i teknologi og kan derfor produsere tilapia såpass mye billigere enn andre slik at de kan tilby frossen fillet rimeligere på tross av avstanden.

Tidlig på nittitallet ble tilapia i USA først og fremst spist av etniske minoriteter og importen var begrenset. I perioden fra slutten av nittitallet til slutten av totusentallet økte importen av fersk tilapiafillet til USA markant og var i 2005 på 134 869 tonn. Prisene holdt seg likevel stabile, noe som ifølge artikkelen til Norman-López (Norman-López, 2009) indikerer at fersk tilapiafillet vant markedsandeler fra andre etablerte markeder i USA. Dette samtidig som global produksjon fra akvakultur steg raskt mens det var en flat eller synkende trend for mengde kommersielt viktig villfanget fisk. Det kan bety at fersk tilapia-fillet fra oppdrett konkurrerer direkte med andre kommersielt viktige arter som fiskes. I denne perioden økte importen av fersk fillet til USA, men også importen frossen fillet og helfrossen fisk. I motsetning til fersk fillet som har hatt stabile priser har prisene for frossen fillet og helfrossen fisk gått ned i takt med økt import. Det kan indikere at de ulike produktene konkurrerer i ulike markedssegmenter (Norman-López, 2009).

En mulig årsak til at tilapia har fått stor popularitet i USA kan ifølge Josupeit (Josupeit, 2004) skyldes at kjøttet har en fin hvit til lys rosa farge og en veldig mild smak. Kjøttet er fast og blir ikke mykt eller vassent under tilbereding. Disse kvalitetene er sammenlignbare med allerede populære fiskearter i USA som amerikansk malle, rød snapper og torsk. I forhold til næringsstoffer er kjøttet medium på fettinnhold og høyt på protein. Tilgangen er stabil og kommer fra bærekraftig akvakultur, noe som blir viktigere og viktigere for forbrukerne (Josupeit, 2004).

## **Det europeiske markedet**

Etter flere søk både i litteraturen og på internett har det vist seg å være vanskelig å få detaljert historikk om det europeiske tilapiemarkedet, men vi har allikevel dannet oss et bilde av utviklingen og dagens bilde basert på et utvalg relevante kilder. Fram til 2010 er det vanskelig å si noe om importen av tilapia til Europa fordi dataene rett og slett ikke er (direkte) tilgjengelige. Inntil 2005 gikk tilapia under kategorien ferskvannsfisk både i EU sentralt og i de enkelte medlemslandene. Derfor har man forsøkt å estimere markedsstørrelsen basert på eksportdata fra Taiwan og importdata i kategorien «ferskvann ikke identifisert» som sannsynligvis er tilapia (Josupeit, 2005). Tilapiaproducter fikk sine egne koder i 2012 (Centre for the Promotion of Imports from developing countries, 2018). I 2005 var det frossen hel fisk som var det mest importerte tilapiaproductet, i motsetning til i USA hvor fillet var og er viktigere produkter. I perioden 1996 til 2002 steg den estimerte importen av tilapia (hel frossen fisk) til EU fra 1 821,6 tonn til 7 806,4 tonn. Til sammenligning importerte USA 40 748 tonn hel frossen tilapia i 2002 som er 5 ganger så mye som til EU av samme produkt det samme året (Josupeit, 2004).

En mulig forklaring på at tilapiemarkedet i Europa var svært begrenset tidlig på 2000-tallet kan være manglende kunnskap både om fisken i seg selv og måter å tilberede den på. Fremmede fiskearter må introduseres for forbrukeren, men interessen for tilapia var lav blant europeiske aktører (Josupeit, 2005). Polanco og medarbeidere (Polanco et al., 2014) skriver i en artikkel på Global Aquaculture Alliance at markedet for tilapia i EU er begrenset. De så på importert frossen fillet hvor snittet for årlig import har vært på under 20 000 tonn i året som kun er 0,003% av det globale fiskefilletmarkedet. Videre skriver de at tilapia til EU i hovedsak kommer fra Asia, spesielt Kina. Markedet for import av frossen tilapiafillet må ha vokst betraktelig i tidsrommet mellom 2002 og 2013 da det i 2002 kun ble importert 648,7

tonn av dette produktet og i 2013 var importen på 19 321,7 tonn som betyr en økning på nesten 3000% (Polanco et al., 2014, Josupeit, 2005).

Erik Hempel i Nor-Fishing Foundation har laget en presentasjon (Hempel, 2015) hvor han lister opp det han mener er viktige årsaker til at det europeiske tilapiamarkedet ikke har utviklet seg i perioden 2010 til 2014. I presentasjonen peker han på følgende faktorer:

- Det amerikanske markedet var mer attraktivt med tanke på pris og volum
- Høye transportkostnader da produsentene ligger langt unna
- Tøff konkurranse mot populære arter som for eksempel torsk og haimalle
- Tilapia selges hovedsakelig i supermarkeder i Europa hvor kundemassene er opptatte av lave priser

Siden 2014 har det europeiske markedet vært fallende ifølge CBI (Centre for the Promotion of Imports from developing countries, 2018). Markedsverdien for import av tilapia til Europa var i 2013 på 118 millioner euro mens den i 2017 var på 96 millioner euro. Dette er også i tråd med det Mapfumo (Mapfumo, 2018) skriver for FAO om at det er en synkende trend for etterspørselen etter tilapia i Europa. I 2018 var det europeiske tilapiamarkedet verdt 147 050 000 USD og utgjorde 9,81% av all tilapiainport det året (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020b). Spesielt Nederland og Belgia er store på tilapia i Europa og i 2015 hadde de henholdsvis 16% og 9% av verdensmarkedet for fersk tilapiafillet. Disse landene har hatt et klart fokus på å re-eksportere fersk tilapiafillet til andre EU-land og i 2015 kom 38% av fersk tilapiafillet i Europa fra/via Nederland og 15% fra/via Belgia (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018).

Som nevnt ovenfor, har etterspørselen etter tilapia vært fallende i USA siden 2014. En synkende trend ses også i Europa. Dette på tross av lavere pris og bedre produktkvalitet med forbedret emballasje og sporbarhet. Ifølge Mapfumo i FAO (Mapfumo, 2018) skyldes den manglende viljen til å betale for tilapia «inflammatory statements made on websites» som oversatt betyr noe som «provoserende påstår på nettet». Et søk på Google med søkeordene «eat tilapia» viste at det er mye diskusjon omkring tilapia og ernæring, og allerede på treff nummer fire linkes det til en nettside hvor det ramses opp flere årsaker til at man absolutt ikke bør spise tilapia (Global Seafoods North America, 2019). Litt lenger ned i søkeresultatene, treff nummer 9, fant vi til og med en nettside som forklarer hvorfor de anser tilapia som mer usunt enn bacon (Eat This, 2015). Selv om ikke alle treffene på første resultatside var like direkte anti-tilapia som de to nevnte eksemplene var flere av dem vinklet slik at de skulle veie fordeler og farer av å spise tilapia opp mot hverandre og om det er en trygg fisk å spise. Slike sider gir inntrykket av å være balanserte, men samtidig bygger de oppunder usikkerheten rundt tilapia som matfisk. Et eksempel her er det øverste treffet på søket vårt med tittelen «Tilapia Fish: Benefits and Dangers» hvor konklusjonen er at det antakeligvis er best å droppe tilapia fra kostholdet og heller velge laks eller ørret (Pearson, 2017). Vi tror det er nettsider som de vi har funnet her etter et raskt søk på Google som Mapfumo tenker på som «inflammatory».

El-Sayed (El-Sayed, 2020) skriver at det globale markedet for tilapia har hatt en eventyrlig vekst over de siste 20 årene og henviser til blant annet FAO når han videre skriver at det er forventet at markedet vil vokse ytterligere. Begrunnelsen er konkurransedyktige priser og at etterspørselen etter hvit fisk i vestlige markeder vil øke og at tilapia kan dekke mangelen som oppstår når det er lite å få tak i av annen hvit fisk. El-Sayed mener årsaken til et fallende amerikansk tilapiemarked er en lavere produksjon i Kina (El-Sayed, 2020).

## **Ulike produksjonssystemer**

Oppdrett av tilapia foregår i systemer både på land og i vann. Ifølge El-Sayed (El-Sayed, 2020) kan man dele oppdrett av tilapia inn i semi-intensiv og intensiv produksjon. Dette er uttrykk som går igjen i litteraturen, men vi har ikke funnet en entydig definisjon av de ulike produksjonssystemene. Intensitet henger sammen med mengde fisk som produseres per tid eller per areal/volum, for eksempel antall tonn produsert i året, men vi har funnet veldig variable numeriske grenseverdier for når oppdrettet klassifiseres som henholdsvis semi-intensivt og intensivt. Felles for mye av litteraturen vi har brukt er at disse begrepene også er knyttet til hvordan fisken holdes. Et semi-intensivt system foregår typisk i vanndammer av ulik størrelse med lav tetthet av fisk mens intensivt oppdrett ofte baserer seg på merder og tanker hvor fisken lever i en mye høyere tetthet.

Modadugu & Acosta (Modadugu and Acosta, 2004) beskriver en sosio-økonomisk inndeling av de ulike oppdrettssystemene som bygger på hvor mye ressurser som legges i driften: produksjon for livsopphold og storskalaproduksjon. Produksjon for livsopphold beskrives som arealkrevende med lav innhøsting, uten bruk av syntetiske tilsetninger i produksjonen, ikke-kommersiell og for eget konsum. Storskalaproduksjon beskrives som kapitalkrevende, kommersiell og styrt av markedet. I en artikkel av Silva og medarbeidere (Silva et al., 2004) gitt ut av FAO i 2004 står det at produksjonspraksis for tilapia muligens er den mest varierende for all oppdrettsfisk globalt. Tilapia er fisk som kan produseres i mange ulike intensiteter tilpasset den enkelte oppdretters sosioøkonomiske status, alt fra oppdrett i hagen til meget kapitalkrevende kommersiell produksjon. Silva og medarbeidere beskriver i den nevnte artikkelen de ulike produksjonsformene basert på hvilke enheter fisken holdes i: vanndammer, merder, resirkuleringsanlegg, lukkede systemer og så videre hvor produksjonen

i hver av enhetene kan variere fra lav-, semi-intensiv og intensiv, men uten at det er foreslått grenseverdier for hver type.

Josupeit (Josupeit, 2005) deler akvakulturproduksjonen av tilapia inn i tre metoder: lokal damkultur, kommersielle småskalasystemer og industrielle akvakultursystemer.

Lokal damkultur er arealkrevende og er veldig vanlig i tropiske land. Fisken fra disse systemene er ment for å bidra til lokalbefolkningen sitt matbehov og fokuset her er kvantitet over kvalitet. Det er stort sett en blanding av alle aldersgrupper i dammen på samme tid og føret som brukes er ofte matrester fra bondens egen husholdning. Produksjonsmengden for disse systemene er lav og gir et sted mellom 0,5 og 2 tonn fisk per hektar (Josupeit, 2005).

Kommersielle småskalasystemer er ofte semi-intensive og veldig utbredt i Asia. Det settes ut yngel, men stamfisken er av dårlig kvalitet. Fisk i slike småskalasystemer er ofte myntet inn på det lokale markedet, men det er også noe eksport (Josupeit, 2005).

De industrielle akvakultursystemene driver intensivt og eksporterer som regel til det internasjonale markedet. Yngel kommer fra stamfisk av høy kvalitet og i motsetning til de to andre systemene gis fisken her et energirikt fôr. Når det brukes resirkuleringssystemer kan produksjonen være på 150-180 kg fisk per kubikk vann (Josupeit, 2005).

Det El-Sayed skriver i boka «Tilapia Culture» (El-Sayed, 2020) kan tolkes som at semi-intensive produksjon kun foregår i vanndammer, mens for eksempel artikkelen til Yacout og medarbeidere (Yacout et al., 2016) peker på at semi-intensive systemer også kan foregå i

merder og at intensive systemer kan foregå i dammer som er i tråd med Silva og medarbeidere (Silva et al., 2004).

Alt i alt tolker vi det dit at det ikke finnes noen akseptert konsensus på hvordan man deler inn produksjonsformene for tilapia. Det er variasjon i litteraturen som gjenspeiler det brede spekteret av produksjonsformer som finnes globalt. Videre i vår studie vil vi derfor forenkle inndelingen med utgangspunkt i El-Sayed (El-Sayed, 2020) sin inndeling i semi-intensive -og intensive systemer.

Når vi beskriver oppdrett i semi-intensive systemer mener vi oppdrett av tilapia i jorddammer for eget eller lokalt konsum og hvor fisken ikke får kommersielt før. Med intensive systemer mener vi kommersiell produksjon i kunstige dammer, tanker, merder og resirkuleringsanlegg hvor i hvert fall en del av produksjonen er ment til internasjonal eksport og hvor fisken får et tilpasset, kommersielt før med et høyt energinivå. Samtidig er det viktig å understreke at det finnes glidende overganger mellom disse to produksjonsstrategiene og at type produksjon kan variere stort også innenfor samme land. Zambia er et godt eksempel her hvor man finner hele spekteret fra høyintensiv, kommersiell produksjon til produksjon for lokalt forbruk. Hvilken produksjonsform som er dominerende i et land avgjøres i stor grad av økonomiske forhold (Donbæk et al., 2019).

### **Semi-intensivt oppdrett**

Over 90% av all oppdrettet tilapia kommer fra semi-intensive systemer. Semi-intensive oppdrettssystemer er en enkel og rimelig metode for å produsere fisk og andre akvatisk organismer. Disse systemene baserer seg på at fisken spiser mikroorganismer som er naturlig

forekommende i vanndammer (El-sayed, 2008). Disse inkluderer ulike planktonorganismer, løse organiske partikler og råttent organisk materiale (Towers, 2005).

Semi-intensivt oppdrett er utbredt i landlige områder i utviklingsland og er viktig for matsikkerheten i disse områdene. Hovedsakelig er det herbivore eller omnivore fisk som spiser langt nede i næringskjeden som er egnet for denne type oppdrett, eksempel tilapia- og karpefisk (El-Sayed, 2020).

Helt overordnet kan man dele mikroorganismene som fisken spiser inn i autotrofe og heterotrofe organismer. De autotrofe organismene kan bruke uorganiske stoffer fra omgivelsene til å bygge organisk materiale og dermed opprettholde sitt eget liv. Planter, alger og bakterier som inneholder klorofyll er fotoautotrofe og bruker lys for fotosyntese hvor de produserer organiske forbindelser fra karbondioksid og vann. Heterotrofe organismer trenger derimot organisk stoff til energiproduksjon og er det motsatte av de autotrofe. Heterotrofe organismer inkluderer dyr, sopp og de fleste bakterier (Universitetet i Oslo, 2011a, Universitetet i Oslo, 2011b).

Plankton og alger er også begreper som går igjen når en snakker om tilapia og fôring. Plankton er en samlebetegnelse på organismer i vann som forflytter seg passivt i vannmassene. En kan dele plankton inn i dyre- og planteplankton. Planteplankton har fotosyntese og er autotrofe organismer mens dyreplankton er heterotrofe. Akvatiske næringskjeder er veldig avhengig av plankton da de er langt nede i næringskjeden og er livsgrunnlaget for organismer høyere opp. Samtidig kan de skape problemer hvis det blir for mange, såkalt algeoppblomstring. Da kan fisk dø blant annet fordi alt oksygenet i vannet forbrukes (Viberg, 2009).

Alger er en samlebetegnelse på ulike organismer som lever i fuktige miljøer og driver fotosyntese. De kan deles inn makro- og mikroalger hvor de fleste alger er mikroalger. Mikroalger er encellede mens makroalger er flercellede. Mikroalger er det samme som planteplankton. Derfor går begrepene plankton og alger delvis inn i hverandre. Ellers finnes makroalger i strandsonen og på grunt vann. De deles inn i brunalger, grønnalger og rødalger. Det er brunalgene som er det vi omtaler som tang og tare (Trondsen and Egeland, 2020).



Figur 1: Typisk semi-intensivt damoppdrett. Kilde: Early mortality in tilapia fingerlings on Lake Kariba in Zambia (Donbæk et al., 2019)

Det finnes et utvalg av måter å drive damoppdrett av tilapia på. En kan ha både hann- og hunnfisk i samme dam, men da må innhøstingen skje før fisken når reproduktiv alders eller vil man få problemer med for stor tetthet av fisk. Det begrenser tiden fisken har å vokse på og dermed også størrelsen den når. Dessuten må man også tenke på hvilke arter man har i en dam med begge kjønn da noen arter når reproduktiv alder så tidlig som 2-3 måneder, mens andre bruker 5-6 måneder. En måtte å komme rundt disse utfordringene på er å kun bruke hunnfisk. De vokser raskere og unngår de reproduksjonsmessige utfordringene (The Fish Site, 2005).

Begrepet polykultur er aktuelt i sammenheng med drifting av damoppdrett. Her er prinsippet å ha tilapia sammen med en annen art – enten for å bedre utnytte næringsressursene i dammen slik at to arter kan vokse fram til slakt eller å bruke den andre arten til å regulere tilapiaen, som regel predatorer som spiser yngel. En må bruke arter som har forskjellig økologisk niche for å øke total produksjon uten å føre mer. Eksempler på polykultursystemer med tilapia er tilapia – kanalmalle (*Ictalurus punctatus*), tilapia – ferskvannsreker (*Macrobrachium rosenbergii*) og tilapia – lakseabbor (*Micropterus salmoides*) (The Fish Site, 2005).

En form for polykultur er som nevnt å bruke predatorer for å holde mengden tilapiayngel nede. Tilapia sin reproduksjon er meget effektiv og uten en strategi for å håndtere dette kan nesten  $\frac{1}{4}$  av innhøstingen (23%) bestå av yngel. Hovedproblemet med yngelen er at de konkurrerer om de samme ressursene som den voksne fisken slik at deres veksthastighet går ned. Forsøk med predatorfisk har vist seg å gi gode resultater med tanke på produksjon. Systemet har vært brukt i forskningssammenheng, men også kommersielt i Kongo per 1996 hvor de holdt Nile tilapia sammen med afrikansk ålemalle (*Clarias gariepinus*). Denne metoden har derimot noen klare etiske problemstillinger i forhold til dyrevelferden, i tillegg til at det er utfordringer med føring av predatorfisken da de må ha tilleggsfôr for å ikke gå i energiunderskudd. Andre utfordringer er høy dødelighet hos predatoren og for noen predatorarter er det begrenset tilgang på yngel (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1996). Bruk av predatorfisk har blitt vanlig praksis mange steder (El-Sayed, 2020).

El-Sayed (El-Sayed, 2020) skriver om et utvalg andre måter å kombinere tilapiaproduksjon med annen type produksjon på som har fellesbetegnelse integrert kultur. Det går ut på oppdrett av fisk eller skalldyr sammen med jordbruk eller husdyrhold. Poenget er å fullt

utnytte ressursene og avfallet man har tilgjengelig på gården sin. Slike systemer inkluderer tilapia i risåkre, tilapia i kombinasjon med dyrking av hvete (en planter hvete i vannet når fisken er blitt høstet fordi vanntemperaturene begynner å bli for lave) og hold av ender, fjørfe og kaniner i kombinasjon med tilapia.

### ***Næringsopptak og føring i semi-intensive systemer***

Organismene i vannet, som fisken skal spise, får forholdene tilrettelagt ved hjelp av gjødsling. Poenget med gjødsling er å øke mengde tilgjengelige auto- og heterotrofe organismer samt å forbedre vannkvaliteten. Målet er først og fremst øke primærproduksjon av oksygen fra de autotrofe og av diverse organiske forbindelser fra de heterotrofe som igjen øker tilgjengelig næring i vannet for fisken. Organisk gjødsling (eksempel kompost og møkk) er mye brukt i tilapiadammer. De fremmer veksten til fisken mer effektivt enn uorganisk gjødsling fordi organisk gjødsel nærer de heterotrofe bakteriene som bryter ned organiske forbindelser i dammen (El-Sayed, 2020).

Riktig gjødsling er uten tvil veldig viktig for produksjonen av tilapia i damsystemer for å utnytte det naturlige næringspotensialet i dammen best mulig. Samtidig er gjødsling en vitenskap i seg selv som det kan være vanskelig for den gjennomsnittlige tilapiaprodusent i utviklingsland å sette seg inn i. Samtidig mener vi at alle burde ha tilgang på i hvert fall grunnleggende prinsipper for riktig gjødsling i dammen sin slik at fiskevelferden og matsikkerheten blir bedre i mange lokale samfunn verden over.

Tilapia er filterspisere. En filterspiser filtrerer ut næringsstoffer fra næringskilder i vann eller sedimenter ved hjelp av ulike mekanismer (Wikipedia, 2020b). Næringspartikler som omsluttet i negativt ladet slim og fanges langs gjellebuene- og filamentene før de føres tilbake

til munnhulen og svelges ved hjelp av hoste og revers vannstrøm over gjellene er en spesielt viktig mekanisme for filterspisere (Dempster et al., 1995). I en artikkel av Dempster og medarbeidere (Dempster et al., 1995) skulle de finne ut om tilapia kunne ta opp nok næring kun ved hjelp av filterspising av alger. Dette gjorde de ved å ta utgangspunkt i tilapia som hadde beitet på en algesuspensjon i labforsøk og gjøre beregninger med utgangspunkt i en bioenergetisk modell.

Tidligere studier hadde vist at alger og organiske partikler fra alger utgjør mesteparten av mageinnholdet i de fleste arter av tilapia, noe som indikerer at tilapia i all hovedsak er planteetere. Det støttes også opp av at tilapia har et spesialisert fordøyelsessystem som kan skape et miljø surere enn pH 1 som er gunstig for å fordøye karbohydratforbindelser fra planteorganismer. Utfordringen, ifølge forfatterne er blant annet at de tidligere studiene på mageinnhold ikke ga noe informasjon om hvordan tilapiafisk får i seg disse algene (Dempster et al., 1995). Det har vært forsøkt å anslå hvordan tilapia beiter på alger ved å analysere tarminnholdet til fisk fra feltstudier og ved kvantifisere inntaket av alger til fisk holdt i laboratorier. Problemets med feltstudier er at man ikke kan si noe om hvordan fisken har fått i seg næringen (om det kun var via filterspising eller andre opptaksmetoder) og derfor brukte Dempster og medarbeidere flere av de tidligere laboratorieforsøkene som utgangspunkt for deres beregninger da de viste at i disse forsøkene fikk fisken kun fikk i seg alger fra suspensjonen gjennom filterspising.

Den bioenergetiske modellen de brukte sa at tilapia som kun filterspiser alger, spesielt hvis mange små planteplanktonpartikler tas opp, ikke får dekket energibehovet sitt for vekst og normalt ender opp med en negativ energibalanse, bortsett fra hvis de får tilgang til store kolonier med *Anabaena cylindrica* (Dempster et al., 1995). Anabaena er en slekt bestående av

filamentøse cyanobakterier og som eksisterer som plankton (Wikipedia, 2020a). De beregnet også at opptaket av alger via filterspising økte markant med økende cellestørrelse på algene noe som viser at næringsverdien i føret ikke kun avhenger av fordøyelighet og sammensetning, men også av partikelstørrelse. Denne konklusjonen er basert på laboratoriestudier hvor det er brukt en overvekt av små planktonpartikler i algesuspensjonen. Det er ikke nødvendigvis slik at det er de små planktonpartiklene som dominerer i naturlig vann da plankton i naturlig vann trolig har en tendens til å danne kolonier eller slå seg sammen, spesielt i næringsrike vann (Dempster et al., 1995).

Forfatterne skriver uansett at deres konklusjon betyr at de små algepartiklene i seg selv har veldig begrenset verdi som matkilde for tilapia fordi liten partikelstørrelse betyr lavt opptak basert på deres modell. Feltstudier har derimot vist at mageinnholdet består av mye algemateriale og det tyder på at tilapia ikke kun beiter på algepartikler i vannmassene, men også utnytter andre næringsressurser som finnes i vannet. De nevner tre muligheter:

- Algepartikler i området der sediment møter vann
- Cyanobakterier som finnes i høye konsentrasjoner i skum i overflaten
- Perifyton (organismer som lever på materialer eller substrater som er nedsenket i vann  
(van Dam et al., 2002), se mer detaljer nedenfor)

Denne kunnskapen har betydning for hvordan akvakultursystemer er bygget opp og hvordan de driftes (Dempster et al., 1995). I forhold til velferd er det veldig viktig at fisken har tilgang til nok næring og faktisk får nyttiggjort seg av denne næringen. Da er det ikke likegyldig hvilke forhold som finnes i det aktuelle vannet siden forhold i sedimentene og tilrettelegging for perifyton virker å være meget viktig for at fisken skal vokse og utvikle seg normalt, og

følgelig ha god velferd. Søker man i litteraturen etter ulike driftsstrategier er det tydelig at det er lagt ned mye arbeid med nettopp perifyton og utvikling av perifytonbasert damkultur.

Perifyton er organismer som lever på materialer eller substrater som er nedsenket i vannet (van Dam et al., 2002). I en perifytonbasert damkultur senkes ulike stive materialer, som for eksempel bambuspåler, og fikseres på bunnen. Materialene fremmer vekst av bakterier, sopp, protosoer, dyre- og planteplankton, bunndyr og invertebrater som slår seg ned på dem. Disse mikroorganismene blir en viktig næringskilde for tilapia som holdes i dammen (Celik, 2012).

Har man gode strategier for gjødsling kan man oppnå en vekt på 200-250 gram i løpet av fem måneder uten å benytte seg av annen føring (Towers, 2014). Men når fisken når en viss størrelse må de tilleggsføres for å fortsette å vokse (El-sayed, 2008). Det er nå en trend at oppdrettere begynner med tilleggsføring allerede andre uken etter innsett. Det er generelt gjort lite arbeid for å kartlegge optimale følingsstrategier for tilapia i semi-intensivt oppdrett. El-sayed (El-sayed, 2008) peker på at å innføre egnede strategier for gjødsling, tilleggsføring og blandet føring i tillegg til mindre hyppig føring og implementering av perifyton-basert damkultur sannsynligvis vil gi lavere førkostnader og en mer økonomisk produksjon.

### ***Bunnforhold og sedimenter***

Selv om føring og førstrategier er meget viktige for en god produksjon og god velferd er det viktig å ikke glemme bunnforholdene i dammen fisken lever i. I Avnimelech & Ritlo sin artikkel (Avnimelech and Ritvo, 2003) blir viktige fysiske, kjemiske og biologiske prosesser som skjer på bunnen og som har betydning for akvakultur tatt opp.

Når en først graver ut en dam er bunnen dekket av det naturlige jordlaget. Etter hvert vil plankton, førrester og andre små partikler falle til bunnen og endre forholdene. Løs leire som

er rik på organisk materiale har en tendens til å akkumulere der dammen er dypest fordi der er det minst bevegelse. Bunnen i dammen bygges opp av tre lag: jord på bunnen, sediment i midten og leire på toppen (Avnimelech and Ritvo, 2003).

Akvakulturdyr tar opp mellom 5 og 40% av næringsstoffene i føret (karbon, nitrogen og fosfor). Studier har vist at mesteparten av nitrogenet (75%) og fosforet (80%) som ikke tas opp havner på bunnen i dammer som brukes til fiskeoppdrett. Karbonet som ikke tas opp blir hovedsakelig pustet ut som CO<sub>2</sub>, men 25% akkumulerer i sedimentene. Nitrogen, fosfor og karbon vil med tiden akkumuleres på bunnen. Basert på studier med reker i dampene har man også sett at konsentrasjonen av grunnstoffene magnesium, kalium, natrium, bor, svovel og sink også øker i løpet av produksjonssyklusen. Samtidig ble det sett at pH i bunnjorda gikk kraftig ned før den stabiliserte seg (Avnimelech and Ritvo, 2003).

På grunn av økt konsentrasjon av organisk materiale på bunnen sammenlignet med i vannmassene ellers, legges forholdene til rette for oppvekst av bakterier. Bakteriene forbruker oksygen og det dannes anaerobe forhold i sedimentene under overflaten hvor anaerobe bakterier vil vokse opp. Da vil det utvikles et miljø på bunnen med vesentlig flere bakterier, både aerobe og anaerobe, enn i de øvrige vannmassene. I en vanndam vil alger drive fotosyntese om dagen og oksygennivået i vannet vil øke, men denne primærproduksjonen av oksygen skjer bare i de øverste 20 centimeterne av vannet. I topplaget blir det da mye oksygen, men diffusjon mot bunnen er ikke en effektiv prosess. Noe vannstrøm gjør at oksygenrikt vann kan nå bunnen, men dette skjer i veldig begrenset grad. Det vil derfor være lite oksygen der vannet møter sedimentet, og dypere i sedimentet vil det i praksis være anaerobe forhold. En finner derfor de aerobe bakteriene kun i den øverste millimeteren av

sedimentene og dypere enn det vil de anaerobe bakteriene være (Avnimelech and Ritvo, 2003).

Når oksygenet forsvinner vil andre molekyler begynne å fungere som elektronakseptorer. Da vil anaerobe redoksreaksjoner skje på bunnen som reduserer organisk materiale og danner mulige giftige forbindelser som  $Mn^{2+}$ ,  $CH_4$  (metan) og  $N_2$ . I tillegg vil organiske forbindelser på bunnen fermenteres i fravær av oksygen og det vil dannes organiske syrer, ketoner, aldehyder, aminer og merkaptaner. Disse kan diffundere oppover i vannsøylen og påvirke fisken negativt på flere måter og være direkte dødelige. Spesielt gjelder dette  $Mn^{2+}$ ,  $H_2S$ , organiske syrer og karbondisulfid (Avnimelech and Ritvo, 2003).

Det finnes måter å håndtere problemene på. Blåsere kan brukes for å styre hvor leire med organisk materiale legger seg på bunnen slik at det lettere kan fjernes. Nitrat benyttes for å hemme de uheldige redoksreaksjonene og jernforbindelser kan tilsettes for å kontrollere hydrogensulfid-dannelsen. Ikke minst kan det være mye å hente på behandling av bunnen mellom innsett av fisk. Behandling av bunnen hvor man har fjernet vann og leire før man lar bunnen tørke, samtidig som en snur på bunnjorda, kalker og gjødsler med nitrogenforbindelser har gitt gode resultater for vannkvaliteten til neste innsett (Avnimelech and Ritvo, 2003).

Studien av bunnforholdene som er gjengitt her illustrerer viktigheten disse har for produksjon og velferd. Det hjelper ikke om man har et best mulig fôr og fôringsstrategi hvis man ikke tar høyde for de uheldige forholdene og utvikling av mulig toksiske forbindelser som vil utvikles på bunnen og spre seg i vannet via diffusjon. Vi mener derfor det er mye å hente på å planlegge hvordan man dammen anlegges og ikke minst at det tas grep underveis for å holde

vannkvaliteten god. Som tidligere nevnt foregår en veldig stor andel av verdens tilapiaproduksjon i privat og ikke-kommersiell regi. Menneskene som driver denne produksjonen har ofte begrenset med ressurser og liten tilgang på informasjon. Ved å gi tilgang på informasjonen tror vi det kunne bidratt til et løft både i matproduksjon og fiskevelferd.

### **Intensivt oppdrett**

Disse systemene bygger på høy tetthet av fisk for å øke produksjonen samtidig som en bruker minst mulig vann (resirkuleringssteknologi eller gjennomstrømming er alternativene). Intensivt oppdrett er avhengig av kommersielle forblandinger og dyre investeringer i teknologi. Det finnes ulike måter å drive intensive oppdrett på, for eksempel i tanker, merder og bruk av ulike typer resirkuleringssystemer. Det er også eksempler på intensivt oppdrett i jorddammer, men det er ikke veldig utbredt sammenlignet med andre metoder. Intensive oppdrettssystemer gir en produksjon mellom 100 og 500 tonn  $\text{ha}^{-1}$  i året (El-Sayed, 2020, Celik, 2012). Gjennom søk i litteraturen har vi sett at det er et fokus på å utvikle nye intensive oppdrettssystemer for å øke matproduksjonen i fattige deler av verden.



Figur 2: Intensivt tilapiaoppdrett i merd. Kilde: Early mortality in tilapia fingerlings on Lake Kariba in Zambia (Donbæk et al., 2019)

De viktigste utfordringene i intensivt oppdrett av tilapia er vannkvalitet, temperatur, salinitet, ammoniakk, pH, oppløste metabolitter, ernæring og føring. Den aller viktigste enkeltfaktoren i intensive oppdrett er tetthet, men selv om det har blitt forsket mye på dette finnes det ingen klare resultater/anbefalinger for sammenhengen mellom tetthet, vekst og overlevelse. Det indikerer at det er mange faktorer som spiller inn på vekst og overlevelse i tillegg til tettheten, blant annet livsstadium, størrelse, kjønn, sosiale forhold og toleransen fisken har for endringer i miljøet. Derimot er det en sammenheng mellom tetthet og produksjon – jo høyere tetthet, jo høyere produksjon. Samtidig er det også vanligvis en negativ sammenheng mellom tetthet og veksten til hver enkelt fisk (El-Sayed, 2020).

I 2014 ble det publisert en studie hvor Aketch og medarbeidere (Aketch et al., 2014) ønsket å se på sammenheng mellom tetthet og ekspresjon av glukose transportprotein 1 og andre fysiologiske parametere hos Nile tilapia i Lake Victoria. De hevder at fiskeoppdrettere generelt har en tendens til å holde fisk med høy tetthet som en måte å øke produktiviteten på, men hvis man ikke drifter dette ordentlig vil den høye tettheten være en kronisk stressor som

sannsynligvis vil gi en dårligere produksjon. Kronisk stress hos fisk gir redusert vekst, erosjoner på finnene, nedsatt reproduksjon og økt mottakelighet for sykdom og død (Aketch et al., 2014).

Stress øker plasmanivåene av kortisol og glukose. Glukose distribueres til forskjellige vev ved hjelp av transportproteiner for glukose, «glucose transport proteins»/GLUTs». GLUT1 er et transmembrant protein i røde blodceller hvor det pumper glukose inn og ut av cellene. Det er uklart hvordan kronisk stress påvirker glukose og GLUT1 hos fisk som står i høy tetthet. Denne studien skulle prøve å kartlegge rollen til GLUT1 i glukosemetabolismen hos fisk som blir utsatt for kronisk stress indusert av høy tetthet (Aketch et al., 2014). Det ble funnet signifikante forskjeller mellom fisk som stod i lav tetthet (1,5 kg per kubikk) og fisk som stod i høy tetthet (4,5 kg per kubikk). Fisk i høy tetthet hadde høyere plasma kortisol, blodglukose, antall røde blodceller og plasma GLUT1. Forfatterne konkluderte med at en tetthet på 4,5 kg fisk per kubikk trolig ikke er egnet for oppdrett av Nile tilapia og at de nevnte fysiologiske faktorene, spesielt GLUT1, kan bli brukt som en cellulær biomarkør for stress i fiskeoppdrett og akvakultur (Aketch et al., 2014). Her skulle vi ønske forfatterne hadde fått fram at kronisk stress over tid er negativt for fiskens velferd ved å faktisk bruke ordet velferd, slik at de i tillegg til å få fram produksjonsmessige konsekvenser på grunn av stress også hadde knyttet dette opp mot at dårligere velferd også gir dårligere produksjon.

Vi har kommet fram til at de mest utbredte måtene å drive intensivt tilapiaoppdrett på er oppdrett i merder, tanker og resirkuleringssystemer. Det finnes også andre innretninger og teknologier som «green water tank», «aquaponicsystemer» og «bioflocteknologi».

«Green water tank» er prøvd i Israel, USA og Jomfrøyene og er etter vår forståelse foreløpig mest interessant i forskningssammenheng. Det er også lagt ned mye arbeid med «aquaponicssystemer», men vi har ikke funnet at et slikt system er i drift utenfor forskningsinstitusjoner. Delvis er situasjonen den samme for «bioflocteknologi», men denne har også vært utprøvd under kommersielle forhold (El-Sayed, 2020). Da disse tre driftsmåtene/teknologiene foreløpig ikke er veldig utbredt, i hvert fall ikke i kommersiell sammenheng, velger vi å ikke beskrive disse nærmere her.

### ***Oppdrett i merder***

Bruk av merdoppdrett av tilapia har fått økende oppmerksomhet de senere årene fordi det krever forholdsvis lave investeringer sammenlignet med andre former. Det har også vært forsøkt å plassere merder i sjø- og brakkvann på grunn av utfordringer med tilgjengelig ferskvann, men disse forsøkene har hatt ulik grad av suksess. Merder i ferskvann for kommersiell produksjon har derimot opplevd rask vekst, spesielt i Asia, Afrika og Latin Amerika (El-Sayed, 2020).

En av de største fordelene med merdoppdrett er stor fleksibilitet med tanke på hvor en kan plassere merdene, men samtidig har denne driftsformen utfordringer i tillegg til utfordringene med vannkvalitet, tetthet, føring og ernæring som er felles for alle intensive oppdrettsformer. Noen viktige utfordringer for oppdrett av tilapia i merder er (El-Sayed, 2020):

- Utsatt for dårlige værforhold
- Behov for strategisk planlegging mellom de ulike stadiene i produksjonen (merder for yngelproduksjon og vekstmerder)

- Behov for høy vannstrøm for å møte fiskens oksygenbehov og effektivt fjerne avfallsstoffer
- Behov for vasking av nøtene med jevne mellomrom
- Andre fisk kan tiltrekkes av føret (en del før vil tapes til omgivelsene) og disse kan bringe med seg ulike sykdommer som da vil ha potensielle til å spre seg meget raskt og ukontrollert i merdene
- Risiko for tyveri
- En generell forhøyet risiko ved produksjonen med tanke på at konstruksjonen kan ryke og all fisken rømmer

### ***Oppdrett i tanker og «raceways»***

Denne oppdrettsformen har blitt mer og mer populær, spesielt i tørre områder med begrensete ferskvannsressurser. Bruken av oppdrettstanker er for eksempel stigende i Egypt. Tankene er generelt mindre enn jorddammene som brukes i semi-intensive oppdrett og er typisk laget av betong, fiberglass, tre, metall eller annet materiale. De innvendige flatene er som regel glatte for å forebygge skader på fisken. Formen på tankene er typisk firkantede eller runde, men det finnes også flere former. Betongtanker formet som en D ble designet for å unngå problemer med at fisk hoper seg opp i hjørner (og forbruker alt oksygenet) og disse har blitt en kommersiell suksess (El-Sayed, 2020). I tillegg finnes det en variant som kalles «raceway» eller «flow-through systems». Dette er kunstige, rette, kanallignende tanker og har vært brukt til akvakultur på land lenge. I kanalen går det en kontinuerlig vannstrøm som skal dekke fiskenes oksygenbehov og fjerne avfallsstoffer (Wikipedia, 2018).

Et kritisk punkt når man driver oppdrett i tanker er utskifting av vannet. En kontinuerlig vannstrøm er gunstig for å opprettholde god vannkvalitet, men hvis utskiftingen er for lav blir

vannkvaliteten dårlig fordi fôrrester, fæces og andre metabolitter får mulighet til å akkumulere. I tillegg må man tenke på at hvis vannstrømmen er for sterk vil fisken bruke en del energi på svømming mot strømmen og det gir dårligere vekst og overlevelse. Spesielt sirkelformede tanker er utsatt for dette, men de har samtidig flere fordeler som en mer «trent» fisk (siden de må bevege seg konstant), bedre fordeling av vannet og er billigere å lage enn «raceways» (El-Sayed, 2020). Oppsummert er det viktig å finne en best mulig strømningshastighet for å balansere mellom god vannkvalitet og en fisk i god form på den ene siden og forøket dødelighet på den andre siden hvis vannstrømmen blir for kraftig.

Hvis ikke avfallsstoffer blir fjernet og får bygge seg opp kan det skje oksideringsreaksjoner slik at oksygen fjernes fra vannet og fisken i verste fall kan dø. For gjennomstrømmingssystemer skjer fjerning av avfall kontinuerlig, men det er en kritisk problemstilling i lukkede systemer som tanker uten gjennomstrøm av vann og resirkuleringsanlegg (El-Sayed, 2020). I tanker uten gjennomstrøm av vann blir nytt vann tilsatt og gammelt vann drenert ut for å holde vannkvaliteten god. Sirkulære tanker har en effektiv metode for å fjerne faste avfallsstoffer ved å installere en dreneringsmekanisme sentralt i tanken. Det finnes flere metoder og strategier for avfallsfjerning hvor noen til og med inkluderer ulike former for biofiltre (Towers, 2014).

En bevist god metode for å fjerne avfall ved biofiltrering er å tilsette risskall som er et biprodukt fra dyrking av ris. Disse har en stor overflate som bakterier kan vokse på og en form som fremmer dannelse av biofilm. I tillegg er det lett å få tak i og billig. Bakteriene som vokser på disse vil bryte ned avfallsstoffene analogt med det som skjer på biochipsene av plastikk som vi kjenner igjen fra biofiltre i moderne RAS-anlegg, men er mye mer tilgjengelig for risproduserende utviklingsland (El-Sayed, 2020).

### ***Oppdrett i resirkuleringsanlegg***

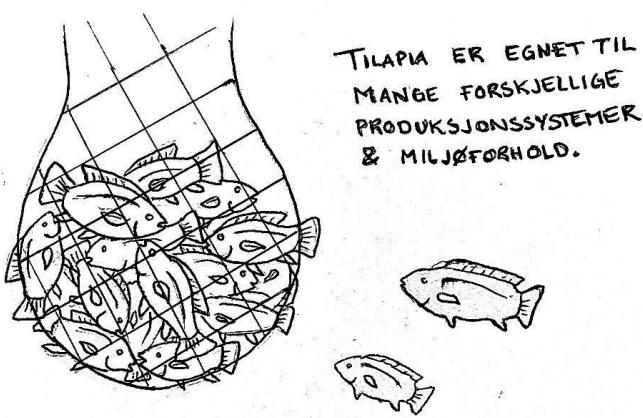
Resirkuleringsanlegg (RAS) er designet for å gjenbruke det aller meste av vann med kun et minimalt inntak av nytt vann. Dette skjer gjennom ulike prosesser som involverer nøye overvåkning av vannkvaliteten, biofiltre, mekaniske filtre, kompressorer og UV-bestråling. Oppdrett av tilapia i RAS har spredd seg til flere deler av verden og blitt spesielt populære i områder som sliter med mangel på ferskvann. I USA benyttes teknologien for egen, høyteknologisk tilapiaproduksjon, men RAS brukes også i land som Taiwan, Bahamas og Egypt (El-Sayed, 2020).

Da RAS er avhengig av ekstremt dyr teknologi er den ikke nødvendigvis så aktuell i en rekke land der tilapia ses på som en «billig fisk» og markedet vil ikke betale en pris som forsvarer/dekker investeringeskostnadene. Samtidig som teknologien muliggjør å holde tilapia i en høyere tetthet enn i noen av de andre oppdrettssystemene går høy tetthet negativt ut over fiskens vekst og overlevelse. I tillegg, hvis man får en teknisk svikt og ikke oppdager og løser problemet raskt vil fisken dø som følge av dårlig vannkvalitet. Alle systemer for avfallsfjerning må fungere og en må ha konstant overvåkning for å ha kontroll på TAN (Total Ammonium Nitrogen, summen av NH<sub>3</sub> og NH<sub>4+</sub>) og andre nitrogenforbindelser i vannet. Systemene må også opprettholde ønsket oksygenmetning i vannet og minimere CO<sub>2</sub>. Avløpsvannet fra RAS et miljøproblem og er noe som er blitt forsøkt jobbet med å løse, eller i hvert fall redusere omfanget av (El-Sayed, 2020).

## Miljø

### Tilpasning til mange ulike miljøforhold

Den vide geografiske utbredelsen av tilapia kan i stor grad forklares av fiskens habitatdiversitet. I Afrika er det naturlig forekomst av tilapia i et vidt spekter av ulike økologiske og geografiske habitater. Alt fra permanente, temporære, tropiske og subtropiske elver til grunne, sumplignende, dype, menneskeskapte, alkalisk, saltholdige, krater, lavt mineralholdige og sure innsjøer. Man ser også tilapia i varme kilder, åpne og lukkede elvemunninger og kystnære laguner i tillegg til marine habitater. Variasjonen av habitater representerer et bredt spekter av miljøforhold som inkluderer fysiske parametere som for eksempel temperatur, dybde, fotoperiode, strømningshastighet og turbiditet, i tillegg til kjemiske parametere som pH, salinitet, oppløst oksygen, gasskonsentrasjon, mineralkonsentrasjon, og biologiske faktorer som førtilgjengelighet, konkurranse og produktivitet. Dermed ser man en ekstrem variasjon av tilpasning til et vidt spekter av miljøforhold, men det vil ikke nødvendigvis tilsi at Nile tilapia vokser like godt under alle forhold (El-Sayed, 2020).



Figur 3: Tegnet av Ingeborg Sørensen Stene (2020)

## **Miljøkrav**

I oppdrett er semi-intensive og intensive produksjonssystemer de to vanligste formene av tilapiaproduksjon i verden. Innunder de ulike systemene finner man ulike miljøforhold, driftsstrategier og dyretethet. Vannkvaliteten er en faktor som kontinuerlig endrer seg og er en viktig utfordring spesielt i de mest intensive kultiveringssystemene i subtropiske og tropiske områder. Dermed er management av vannkvalitet viktig der man må opprettholde god kvalitet slik at fisken får en god helse og vekst. For å gjøre gode vurderinger og tiltak i et oppdrettsanlegg er det viktig med god kunnskap om hvordan man måler og vurderer kjemiske, biologiske og fysiske faktorer. Kontinuerlig introduseres tilapia til nye habitater hvor miljøforholdene ikke er innenfor fiskens toleransegrenser (El-Sayed, 2020). Miljøfaktorer som kommer til å bli lagt vekt på i denne oppgaven er vanntemperatur, salinitet, oksygenmetning (DO), vannturbiditet, ammoniakk, nitritt, pH og fotoperiode.

## **Temperatur**

En av de viktigste faktorene som påvirker tilapia sin vekst, fysiologi, reproduksjon og metabolisme er vanntemperatur. Tilapia er en termofil fisk som tåler vanntemperaturer over et vidt spenn, men for normal vekst, utvikling og reproduksjon er den optimale temperaturen 25-32°C. Tilapia kan tåle høye vanntemperaturer, men fra og med 40°C og oppover begynner fisken å dø hvis de eksponeres for dette over lengre tid. I 2008 studerte El-Sayed og Kawanna (El-Sayed and Kawanna, 2008) effekten av tre vanntemperaturer ved å plassere yngel i et resirkuleringsanlegg ved 24°C, 28°C og 32°C. Resultatet viste at fisk som hadde omgivelsestemperatur på 28°C vokste dobbelt så raskt som ved de andre to temperaturene. Det var ingen tydelig forskjell mellom 24°C og 32°C i forhold til vekst. Ved temperaturer ned mot 11°C begynner tilapia å dø og hvis temperaturen når helt ned mot 7,4°C ser man 100% mortalitet (Sifa et al., 2002).

Tabell 2: Oppsummering

| Temperatur (°C) | Påvirkning      |
|-----------------|-----------------|
| 7,4             | 100% mortalitet |
| 11              | Økt mortalitet  |
| 24              | Normal vekst    |
| 28              | Best vekst      |
| 32              | Normal vekst    |
| 40              | Økt mortalitet  |

Ved vanntemperaturer under 20°C reduseres føropptak drastisk og fisken stopper opp å spise rundt 16°C. Individuelle forskjeller vil forekomme mellom ulike stammer av tilapia i forhold til toleransegrenser for temperatur. I hvor stor grad Nile tilapia påvirkes av temperatur avhenger av fiskens størrelse, stamme, varighet, andre miljøfaktorer, lokalisasjon og produksjonssystemet (El-Sayed, 2020).

Tilapia introduseres kontinuerlig til nye habitater og det vil da være viktig å fokusere på deres respons på vanntemperaturer. Naturlig lokalisering i forhold til ekvator har vist seg å være av betydning, jo lengre unna ekvator tilapia finnes, jo mer kuldetoleranse har fisken (Sifa et al., 2002). Via selektiv avl har WorldFish utviklet en stamme av tilapia som er genetisk forbedret hvor et av målene har vært å skape en fisk med bedre overlevelsesevne. Det er 16 land WorldFish har distribuert GIFT (Genetically improved farmed tilapia) til, spredt over 5 kontinenter (WorldFish, 2016). GIFT introdusert i Kina har vist seg å ha dårligere kuldetoleranse enn stammer fra Sudan som via naturlig seleksjon har oppnådd høyere toleranse for kulde. Slike forskjeller settes i sammenheng med at GIFT ikke har blitt eksponert lenge nok for lave temperaturer. Samtidig tror man at GIFT kan ha blitt

kontaminert med en annen art (*Oreochromis mossambicus*) som har dårlig toleranse for kulde (Sifa et al., 2002). Dermed vil tidsaspektet ha noe å si for hvor godt fisken tilpasser seg omgivelsestemperaturene. Ved å kondisjonere tilapia ved middels lave temperaturer før de eksponeres for lavere temperaturer kan øke fiskens toleranse mot kuldestress, og dermed fiskens overlevelsesevne (El-Sayed, 2020).

Ekspresjon av antifreeze proteingener og immunrelaterte gener stimuleres når tilapia utsettes for kaldere vanntemperaturer. Disse genene kan være en del av fiskens evne til å tilpasse seg og tolerere kaldere omgivelsestemperaturer. Fôring av tilapia medvirker også inn på fiskens toleranse ovenfor kulde. Ved å tilføre maisolje til føret over 8 uker viser det seg at toleransen for lavere temperaturer blir større enn når tilapia fikk fiskeolje eller kokosolje i føret. Dermed er korrekt fôring en viktig del av å styrke fiskens kuldetoleranse (Abdel-Ghany et al., 2019). Størrelse på fisken har noe å si for hvor stor toleransen er for kulde, storyngel er mer tolerante enn større fisk. Dette betyr at storyngel er foretrukket når man skal transportere fisk over til et annet oppdrettsanlegg når man forventer at vanntemperaturen kommer til å synke (El-Sayed, 2020).

Miljøforhold og produksjonssystemer innvirker på toleransen for ulike vanntemperaturer, enten synergistisk eller antagonistisk. Ved oppdrett av tilapia i jorddammer påvirkes fisken i stor grad av dammens dybde og vanntemperatur, hvor best overlevelse og prestasjon sees ved 100-200 cm dybde, dårligst prestasjon og størst mortalitet sees ved 50 cm dybde. Forskjellene kan sees på bakgrunn av fiskens mulighet til å gå dypere i vannmassene under varmere årstider og svømme nærmere overflaten i kaldere årstider (El-Sayed, 2020).

I et annet forsøk så Dan og Little (Dan and Little, 2000) på ulike stammer av Nile tilapia stamfisk (Egyptisk, Vietnamesisk, Thai og GIFT) som skulle overvintre i grunne og dype

dammer, samtidig som at en annen gruppe skulle overvinstre i grunne og dype hapas i en enkel dyp dam, og den laveste temperaturen i denne perioden var 10-11°C. Overlevelsesevnen til fisken i de ulike produksjonssystemene viste 99,6%-100% overlevelse i dype og grunne hapas, det var derimot noe lavere overlevelsesevne på 74,4%-90% hos fisken som var plassert i dype og grunne dammer. Dermed viste denne studien at ved å bruke hapas som produksjonssystem i kuldesesongen vil man kunne redusere og forbedre overlevelsesevnen til ulike stammer av Nile tilapia stamfisk.

I en studie utført av Iqbal og medarbeidere (2012) så man at fiskens vekst økte fra 24 til 32°C ved salinitetskonsentrasjoner på 8, 12 og 16‰. Dermed kan økt salinitet virke positivt på vekst. I tillegg viste temperatur, elektrisk konduktivitet og pH en positiv korrelasjon i forhold til vekst i samme studie (Iqbal et al., 2012). Det er vist høyere produksjonseffektivitet under fertilisering av egg og klekking når tilapia plasseres i vann ved 27°C, med en salinitet på 9,2‰ og pH 7,4. Ved å anvende dette resultatet er det antatt å kunne forbedre eggproduksjonseffektiviteten i tilapiaoppdrett (Hui et al., 2014). Sammenhengen mellom optimal dyretetthet, salinitet og temperatur har vært studert mhp. vekst og utnyttelse av føret og det ble vist at best effekt oppnås ved 500m<sup>3</sup>, salinitet på 6‰ og temperatur 29°C. I tillegg viste det seg at hvis saliniteten drastisk blir redusert kan fisken få en feilregulering av immunforsvaret og dermed bli mer mottakelig for infeksjonssykdommer. Ofte transporteres tilapia fra ferskvann til brakkvann og omvendt, derfor er det viktig at oppdrettere og driftsledere før transport er klar over fiskens toleransegrenser med tanke på ulik temperatur, pH og salinitet (El-Sayed, 2020).

Ved kjønnsdifferensiering og morfologisk utvikling har vanntemperatur en signifikant effekt under tidlig larvestadier, dette er noe mange oppdrettere, driftsledere og forskere ikke er klar

over. Man kan se deformiteter av kropp og begrenset vekst hos tilapia som er utsatt for høye vanntemperaturer (El-Sayed, 2020). Baroiller og medarbeidere (Baroiller et al., 1995) har studert ulike vanntemperaturer sin effekt på kjønnsdifferensiering av Nile tilapia. Studien viste en signifikant økning i andel hannkjønn ved 34-36°C, sammen med genetiske faktorer og genotype-temperatur interaksjoner. Ved lavere vanntemperaturer (19-23°C) så man ingen effekt på kjønnsdifferensieringen. Det er viktig med god temperaturkontroll for produksjon av grupper med overvekt av hannkjønn fordi produksjonstapet vil bli høyt når man nærmer seg øvre letale temperaturgrenser (37,8-39,3°C) (Baras, 2000).

## Salinitet

Ulike stammer av tilapia har ulik salttoleranse, og fiskens størrelse, tilpasningstid, geografi og miljøfaktorer spille inn (El-Sayed, 2020). Kroppsstørrelse har større betydning enn alder for saltvannstoleranse (Watanabe et al., 1985). Nile Tilapia har moderat toleranse for ulike saliniteter og i en studie i et resirkuleringsystem fant de at dødeligheten økte med økt salinitet (8-25%), uavhengig av dyretetthet, og produksjonsmengde og vekstrate sank signifikanter når vannet hadde en salinitet over 8‰ (El-Sayed, 2020). Reproduksjon påvirkes også av salinitet og gonadeutvikling og gyting kan forekomme ved salinitet på 17-29‰, ved økt salinitet fra 25-50‰ forsinkes reproduksjonen og når saliniteten kommer over 30‰ stopper reproduksjonen helt opp. Dette tilsier at man kan forsinke gonadeutvikling og reproduksjonen ved høy salinitet og dermed kontrollere populasjonens kjønnssammensetning i tilapiaoppdrettet (FINEMAN-KALIO, 1988). Oppsummering i tabell:

Tabell 3: Sammenheng mellom salinitet og gyting/reproduksjon hos Nile tilapia

| Salinitet         | Gyting/reproduksjon      |
|-------------------|--------------------------|
| 17-29‰            | Gyting forekommer        |
| Økning fra 25-50‰ | Forsinker reproduksjonen |

|          |                        |
|----------|------------------------|
| Over 30% | Stopper reproduksjonen |
|----------|------------------------|

Gytetidspunkt og proteinbehov hos stamfisk påvirkes av salinitet. Stamfisk blir kjønnsmoden ved større kroppsstørrelse ved lavere salinitet enn ved høyere salinitet. I tillegg ser man ingen endring i gyteintervall når salinitet er 0% og man øker proteintilførsel, men ved 7 og 14% minker gyteintervallet ved økt protein i dietten. Antall gytinger hos stamfisk som føres med 40% protein i ferskvann (FV) er større enn de som føres i vann med en salinitet på 7 og 14% (El-Sayed, 2020). Se oppsummering i tabell:

Tabell 4: Gyteintervall hos stamfisk ved ulike saliniteter og økt tilførsel av protein

| Proteintilførsel | Salinitet | Gyteintervall     |
|------------------|-----------|-------------------|
| Økt              | 0%        | Ingen endring     |
| Økt              | 7 og 14%  | Mindre            |
| 40% protein      | Ferskvann | Flere gytinger    |
| 40% protein      | 7 og 14%  | Mindre enn ved FV |

Derimot har andre forskere funnet stamfisk av Nile tilapia som gyter mer frekvent i brakkvann (5-15%) enn i sjøvann og ferskvann (Watanabe et al., 1985).

Bart og medarbeidere (Bart et al., 2013) demonstrerte effekten av salinitet på egg og yngelstadier av Nile tilapia og deres overlevelsesevne. Ved en økning fra 2 til 5% så man en økt overlevelse når vannets hardhet var 50 mg Ca/L, men når hardheten var 500-1000mg/L var overlevelsesevne like stor ved både 2 og 5%. Ved høy hardhet i vannet og en salinitet på 2% gav høyest klekkerate, motsatt sank klekkeraten når saliniteten økte til 9%, men redusert klekkerate var minst når hardheten i vannet var høyt. Ut ifra denne studien antas det at

hardheten i vannet øker kalsiumnivået i vannet som forebygger mulige bivirkninger eggene kan få av den høye saliniteten. I samme studie så man at 4% er optimal salinitet for egg som skal inkuberes og for larver sin overlevelsesevne. Se oppsummering i tabell:

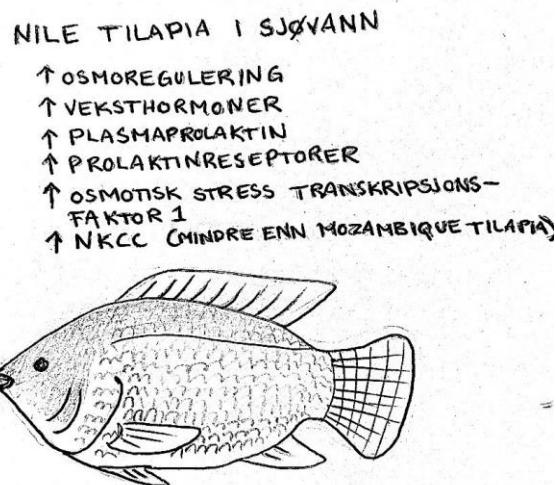
Tabell 5: Salinitet og vannets hardhet. Innvirkning på klekkerate og overlevelse av egg og larver

| Vannets hardhet    | Salinitet       | Overlevelse/klekkerate   |
|--------------------|-----------------|--|
| 50 mg/L            | Økning fra 2-5% | Økt overlevelse  |
| 500-1000 mg/L      | Økning fra 2-5% | Liknende overlevelsesevne ved begge saliniteter                                  |
| Høy                | 2%              | Høyest klekkerate  |
| Høy (500-1000mg/L) | Økning til 9%   | Redusert klekkerate<br>(Reduksjonen var minst ved 1000 mg/L)                     |
|                    | 4%              | Optimal salinitet for egg som skal inkuberes og for overlevelsesevnen hos larver |

## Akklimatisering

Som nevnt har Nile tilapia dårligere salttoleranse enn andre tilapiaarter. Fysiologiske endringer assosiert med akklimatisering til sjøvann kan være svært energikrevende og kortvarig, og fisken bruker mye energi på osmoregulering ved overgang fra ferskvann til sjøvann (El-Sayed, 2020). Ved akutte endringer i vannets salinitet har Breves og medarbeidere (Breves et al., 2010) studert de osmoregulerende og endokrine responsene hos Nile tilapia og Mozambique tilapia. Når fisken ble overført til sjøvann økte osmolaliteten samtidig som at plasmaprolaktin økte. Ekspresjon av gener for prolaktinreseptorer i gjellene økte hos begge arter. Hos Nile Tilapia så man i tillegg økt veksthormon (GH) i plasma og økt ekspresjon av gener for brankial GH reseptorer. Begge arter uttrykte gener for osmotisk stress transkripsjonsfaktor 1. Man så en dårligere evne hos Nile Tilapia til å oppregulere

genekspresjon av  $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$  (NKCC) kotransporter og dermed dårligere evne til å rekruttere sjøvannstype kloridceller som er viktig for god osmoreguleringen. Mozambique tilapia er derimot mer euryhalin og kan tåle høyere salinitet i vannet fordi fisken har større evne til å øke aktiviteten av  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase i gjellene (Breves et al., 2010).



Figur 4: Tegnet av Ingeborg Sørensen Stene (2020)

Ved en gradvis økning av salinitet fra 0‰ til 30‰ viste det seg i en studie (Withyachumnarnkul et al., 2017) at ved 30‰ dør 50% av fisken og man ser en nedsatt vekst hos 40% sammenliknet med tilapia i 0‰. Haemato-immunologiske endringer ble også vurdert og man så at fisk i høyere salinitet enn ferskvann fikk lavere hematokrit, høyere total WBC, høyere antall trombocyetter, lymfocytter og høyere lysozymaktivitet. Infectious Spleen and kidney Necrosis Virus (ISKNV) viste seg å infisere 6/10 av tilapia i sjøvann og i ferskvann var kun 1/10 infisert. Resultatene indikerte at tilapia er mer mottagelig for infeksjon ved stigende salinitet.

### Oksygenmetning/oppløst oksygen (DO)

Via fotosyntese, respirasjon og døgnsvingninger får man variasjoner av oppløst oksygen (DO) i vannet til enhver tid. Fôropptak, vekst og metabolisme påvirkes av oksygenmetningen i

vannet og er derfor en viktig begrensende miljøfaktor på vekst. Selv om tilapia tolererer veldig lave nivåer av oksygen må de fortsatt ha tilgang på oksygen, hvis oppløst oksygen i vannet er 0 mg/L må de ha tilgang på luft fra overflaten av vannet. Man ser at fisken dør hvis de ikke når overflateluften. I en periode kan de fleste tilapia tolerere DO ned mot 0,1-0,5 mg/L. I tillegg tolererer de overmetning av oksygen opp til 400%, årsaken til dette kan være økt fotosyntese fra makrofytt- og fytoplanktonoppblomstring (El-Sayed, 2020). Abdel-Tawwab og medarbeidere (Abdel-Tawwab et al., 2014) undersøkte interaksjonen mellom oksygen og dyretetthet i forhold til ytelsen til juvenil tilapia. Man så størst vekst hos den gruppen som hadde normale nivåer av oksygen (6,0-6,5 mg/L) og lavest dyretetthet (0,2g/L) sammenlignet med de med lavere oksygennivå (1-3mg/L) og høyere tetthet (0,4 g/L). Jo lavere oksygenmetning, jo mindre vekst og føropptak, dette ble ytterligere redusert ved høyere dyretetthet. I gruppene med lav oksygenmetning og høy dyretetthet så man de fiskene med dårligst immunforsvar, dette kan komme av at høy tetthet og/eller lav oksygenmetning stresser fisken.

Når temperaturen i vannet øker reduseres oppløsningen av oksygen i vannet som igjen kan lede til økt respirasjonsfrekvens hos Nile tilapia. Ved varmere temperaturer i vannet har fisken større oksygenforbruk på grunn av økt metabolisme og etterspørselen for oksygen i vev øker. Det er også vist at respirasjonen er uavhengig av DO når metningen er 25-32% og når temperaturen samtidig ligger på 15-30°C. Hvis oksygenmetningen reduseres vil metabolismen til fisken avhenge av tilgangen til oksygen, man ser også at fisken kan dø hvis DO reduseres til under 20% metning i >2-3 dager (El-Sayed, 2020). Studier av Teichert-Coddington og medarbeidere (Teichert-Coddington and Green, 1993) fra Honduras viste at ved å redusere luftingen av dammer fra en oksygenmetning på 30% til 10% ikke ga noen forskjell hva angår

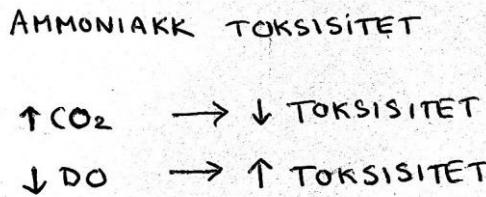
fiskens vekst og vannkvalitet. Man ser likevel bedre vekst ved oksygenmetningen på 30% og 10% sammenliknet med ingen lufting.

Håndtering av fisken vil være stressende og er vist å ha en effekt på oksygenbehovet. Behovet for oksygen kan øke fra +150% til +300% i forhold til hviletilstand. Etter håndtering kan det ta opp mot 3 timer eller lenger før behovet er tilbake til hviletilstand. Dermed er det viktig å håndtere fisken raskt og slippe den tilbake til vann som inneholder høye nivåer av DO. Man ser at større fisk har høyere respirasjonsfrekvens enn mindre fisk.

Mengde karbondioksid i vannet vil også øke respirasjonsfrekvensen til fisken, men de vil tolerere relativt høye nivåer av CO<sub>2</sub> (50-72,6 ppm). Noen mener høye nivåer av CO<sub>2</sub> kan forårsake nefrokalsinose hos tilapia, dermed bør man sikre at mengde oksygen og CO<sub>2</sub> holdes til optimale forhold i et oppdrettsanlegg (El-Sayed, 2020).

### Ammoniakk

Utskillelse av ammoniakk over gjellene på fisk er med på å fjerne avfallsstoffet nitrogen, enten skilles det ut i en toksisk form (NH<sub>3</sub>) eller en ikke-toksisk form (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) for fisken. CO<sub>2</sub>, pH og oppløst oksygen påvirker graden av ammoniakk toksisitet. Hvis CO<sub>2</sub> øker vil toksisiteten gå ned, hvis DO går ned vil toksisiteten gå opp (El-Sayed, 2020).



Figur 5: Laget av Ingeborg Sørensen Stene (2020)

Andre ting som påvirker toksisiteten kan være tiden fisken bruker på å akklimatisere, valg av produksjonssystem, hvilken fiskestamme det er snakk om og størrelsen på fisken (El-Sayed,

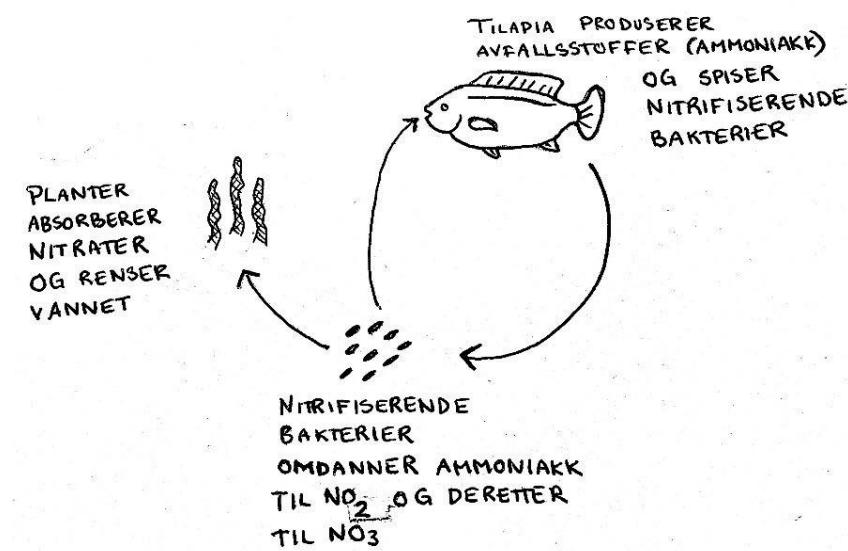
2020). Ved å eksponere tilapia larver og yngel for ulike nivåer av ammoniakk så man at median letal konsentrasjon var henholdsvis 1,0 og 7,40 mg/L. Når larver ble eksponert for ammoniakk så man at fisken svømte med raske bevegelser, de svømte på siden og tapte likevekten, hadde økt ventilasjon, spiralsvømming og kramper. Samtidig så man at gjellene og kroppsoverflaten produserte mer slim, mørkfarging av hud og øyne, og blødninger i gjellene (Gunal and Köksal, 2005). I en studie om effekten av kronisk eksponering med subletal TAN på juvenile Nila tilapia (10g) så man en økt aktivitet av antioksidantenzymer samt økt nivå av oksidering i lever og hvit muskulatur ved både lave (5mg/L) og høye (10mg/L) nivåer av TAN. Dermed vil disse nivåene av ammoniakk kunne indusere reaktive oksygen species (ROS) som vil kunne fungere som en mediator for ammoniakktoksitet. Histopatologiske funn fra fisk som er utsatt for samme subletale nivåer av TAN viste forandringer i gjeller, lever og nyre. Man så hyperemi, fusjon av sekundærlameller, kloridcelleproliferasjon og telangioktasi i gjellene. Nyrevev hadde glomerulonefritt og hyperemi, i lever så man svelling og hydropisk degenerasjon (El-Sayed, 2020). Eksponering av fertiliserte egg for gradvis økning av ammoniakkkonsentrasjon (til 0,6 mg NH<sub>3</sub>-N/L) viste redusert klekkingsrate, vekst og overlevelse (El-Greisy et al., 2016).

I Thailand har man sett en produksjonsvekst fra 2003 til 2013 av tilapia i jorddammer fra 12-46%. Dette er på grunn av høyere etterspørsel fra konsument, forbedring av eggproduksjon, introduksjon av sex-reversal teknologi og tilgjengelighet av pelletert fôr. En slik vekst gir utfordringer med å opprettholde god vannkvalitet i dammene. Total ammoniakk nitrogen (TAN) vil påvirkes av produksjonssystem og dybden i dammen. TAN konsentrasjonen er høyere i bunnlag enn i overflatevannet. Man ser en slik forskjell på grunn av akkumulering av nitrogen i sedimentene. Hvis man de-stratificerer lagdelingen vil man se økende TAN i overflatevann i tillegg til at fytoplankton bruker dette som næring og produsere mer oksygen.

I både integrerte og kommersielle produksjonssystemer ser man at ammoniakken hovedsakelig stammer fra feces, fôr som ikke er blitt spist og avfallsstoffer fra fisken, mye av grunnen til dette er at de fører mye og har høy dyretetthet. Likevel var nivåene av ammoniakk vurdert til å være ikke-tokiske. Problemer med ammoniakk i produksjonen kan unngås hvis man fokuserer på vannkvalitet, det tas hensyn til vær og klima, og benytter lufting/mekanisk miksing i kritiske situasjoner for å redusere stress på fisken, spesielt i forhold til DO konsentrasjonen (Sriyasak et al., 2015).

## Nitritt

I organisk materiale oksideres ammoniakk til nitritt ( $\text{NO}_2$ ) og deretter til nitrat ( $\text{NO}_3$ ) ved hjelp av nitrifiserende bakterier. Tilapia kan føres på blant annet nitrifiserende bakterier samtidig som bakterien fjerner organisk materiale i green-water tank produksjonssystemer (El-Sayed, 2020).



Figur 6: Tegnet av Ingeborg Sørensen Stene (2020)

Omdannelse til nitrat gjør ammoniakk mindre toksisk, men likevel kan forhøyede nivåer av nitrat hemme immunforsvaret og øke mortalitet hvis tilapia eksponeres over lengre tid. Nitritt er derimot veldig toksisk og har negativ effekt på flere fysiologiske funksjoner som

respirasjon, immunforsvar, endokrinologi, ioneregulering, ekskresjonsprosesser, antioksidanter og vekstretardasjon. Nitritt konkurrerer med kloridopptaket ( $\text{Cl}^-$ ) i gjellene, påvirker skjellettmuskelkontraksjonen ved å forhøye ekstracellulær  $\text{K}^+$ -nivåer som igjen vil påvirke membranpotensiale og oksygen vil binde dårligere til hemoglobin. Grunnen til at oksygen binder dårligere er at nitritt har indusert methemoglobinemi (Yildiz et al., 2006). Methemoglobin (MHb) kan ikke frigjøre oksygen og hemoglobinets funksjon som oksygentransportør blir hemmet slik at fisken blir hypoksemisk (Blair et al., 2020).

Videre har man studert responsen av å eksponere tilapia i 24 og 48 timer med to subletale  $\text{NO}_2\text{-N}$  konsentrasjoner (0,50 og 1,38 mg/L). Man så en økning i MHb nivåer etter eksponeringen, men at økningen ikke var relatert til plasma-nitritkonsentrasjonen eller konsentrasjoner i miljøet. Hemoglobin-og hematokritnivåer i blodet ble redusert etter eksponeringen. Eksponeringstiden viste ingen forskjell i nitritkonsentrasjoner i blodet (Yildiz et al., 2006). Ved å eksponere tilapia for ulike konsentrasjoner av nitritt og to ulike nivåer av klorid (35,0 og 70,0 mg/L) over 96 timer fikk man en indikasjon om at man kan redusere toksisiteten av nitritt ved å øke konsentrasjonen av kloridioner. Man så også at andelen MHb øker når fisken eksponeres for nitritt, men forårsaket ikke mortalitet. Hvis man øker kloridkonsentrasjonen synker prosentandelen methemoglobin hos fisken. Når fisken ble eksponert for nitritt og lave nivåer av NaCl viste fisken unormal atferd og toksitetssymptomer som spiralsvømming, fisk som ligger på siden, brune gjeller, muskelblødninger, ubalanse, kramper, mørkere hudfarge og død (Yanbo et al., 2006).

## pH

En del tilapiaarter tåler et bredt spekter av pH i vannet og Nile tilapia har vist seg å kunne overleve fra pH 4 til 11 og er dermed en acidofil art. Wangead og medarbeidere (Wangead et al., 1988) har sett nærmere på overlevelsesevne, atferd og vekst når tilapia er i surt vann. De

så at både storyngel og voksne dør når pH går så lavt som 2-3 i løpet av 1-3 dager. Eldre fisk viser seg å være mer tolerante for lav pH (4-5) og har høyere overlevelsesevne enn storyngel. Når man plasserer storyngel og voksne tilapia i vann med pH 4-5 i 60 til 70 dager ser man at begge aldersgrupper har god toleranse, overlever og vokser på lik linje som kontrollgruppen som hadde pH 7 i vannet. Det er studert hvilken pH som er mest optimal ved oppdrett av Nile tilapia som er 1,37g og resultatet viste at pH fra 5,5-9,0 er mest passende for denne fisken. Ved å overføre fisken fra nøytral pH i vannet til surt vann ser man at *Oreochromis niloticus* har dårligere evne til å tåle overgangen enn *O. mossambicus*, man så hos begge arter at ved pH 3,5 økte Na, K-ATPase-aktiviteten i gjellene. Nile tilapia har dermed dårligere evne til å opprettholde plasma  $\text{Na}^+$  i surt vann, i tillegg ser man at surt vann skader gjelleepitelet, ekskresjon av nitrogen reduseres og mortaliteten øker (El-Sayed, 2020).

På grunn av modernisering, urbanisering og populasjonsvekst så ser man en økt surgjøring eller sur nedbør som blandes med ferskvann i ulike økosystemer. Dette vil som regel få en negativ effekt på fisken som lever i disse økosystemene fordi pH-en i vannet blir for lav. Det er vist at jo eldre fisken er jo større er toleransen for lav pH. Man kan se morfologiske og atferdsmessige endringer når fisken blir utsatt for lav pH i vann. Eksempler på dette er gisping, uregelmessig svømming, slimete mukøs sekresjon, erosjoner i hudens finneblødninger, letargi og nedsatt appetitt. På grunn av acidose, stress, erosjoner i epidermale lag, redusert ioneregulering, nedsatt natriumopptak så ser man økt mortalitet. pH i vannet bør sjekkes regelmessig i et oppdrettsanlegg, det er for å sikre at fisken har den mest optimale pH til enhver tid for å forebygge metabolsk stress og for bedre overlevelsesevne i produksjonssystemet (Mustapha and Atolagbe, 2018). Ved å introdusere lavere pH gradvis istedenfor raskt skifte fra nøytral til sur pH så ser man en lavere forekomst av skade på epitel, hud, høyt plasmaelektrolytt-tap og hemmet respons fra prolaktinceller. Man kan dermed

styrke fiskens toleranse for lav pH hvis man har en lengre tilvenningsperiode (El-Sayed, 2020).

### **Alkalinitet og hardhet**

Vannets bufferkapasitet til endringer i pH kalles alkalinitet, et eksempel er å nøytraliser vannet når vannet blir for surt. Når vannet er alkalisk vil pH, konsentrasjon av bikarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ) og karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) være relativt høy. Man ønsker å ha en optimal alkalinitet i vannet (AV) så man kan opprettholde mest gunstig pH fordi ved for høy pH kan ekskresjon av ammoniakk synke og  $\text{CO}_2$  øke, og hvis man har høy karbonat-alkalinitet vil det kunne være en stor stressor for fisken. Ved å ha en moderat alkalinitet ( $32,58 \pm 5,64 \text{ mg CaCO}_3/\text{L}$ ) i vannet vil man minimere endringene av pH i vann og hindre acidotisk eller alkalisk stress på fisken som igjen vil gi bedre vekst (Rojas and Rocha, 2004). Det er få studier som ser på effekten av alkalinitet i vannet på tilapia i oppdrett. Det er undersøkt effekten av vannets hardhet på overlevelsen til egg som inkuberes kunstig, overlevelse av plommesekklarver og yngel. Vannets hardhet var  $55\text{-}4239 \text{ mg/L CaCO}_3$  og man så bedre overlevelse hos plommesekklarver og yngel enn hvis hardheten i vannet var lavere (El-Sayed, 2020).

### **Fotoperiode**

Regulering av fiskens vekst, metabolsk rate, kroppspigmentering og kjønnsmodning og reproduksjon kan påvirkes av lengden på fotoperioden. En fotoperiode er antall timer hvor det er solinnstråling i løpet av et døgn. Varigheten av fotoperioden kan påvirke fiskens endogene molekylære klokke, som viser til fiskens prestasjon og ekspresjon av genet hepatisk IGF-I. Det er en positiv korrelasjon mellom IGF-I konsentrasjon og vekstrate. Når lysperioden blir lengre forbedres vekstraten og feed conversion ratio (FCR). Ut ifra flere studier er fotoperioden vurdert til å være den viktigste faktoren som spiller inn på synkronisering av den biologiske rytmens hos fisken (El-Sayed, 2020). I en studie fant man ut at tidspunkt for føring

knyttet opp mot periode på dagen (lyssyklus) synkroniseres med den daglige rytmen til fisken (atferd, fordøyelsen og plasmaglukose). Tilapia som ble føret på morgen var aktive om dagen og de som ble føret på kvelden var mindre aktive om dagen. Det er målt maksimal uttrykkelse (akrofase) av alkalin protease i tynntarmen i starten av den mørke fasen både på morgen og kvelden hos de ulike gruppene, mens uttrykkelse av glukose skiftet med 12 timer mellom gruppene. Den daglige rytmen av atferd, fordøyelsesenzymer og plasmametabolitter synkroniseres forskjellig ved ulikt føringstidspunkt knyttet opp mot hvor man er i lyssyklusen. Dermed indikerer dette en plastisitet i forhold til den cirkadiske rytmen og dens synkronisering (Guerra-Santos et al., 2017).

Kjønn og utviklingsstadium har vist å ha en innvirkning på tilapia sin respons på fotoperioden. Tilapia yngel som er oppdrettet innendørs i RAS-anlegg påvirkes i stor grad av fotoperiode, samme grad av påvirkning sees ikke hos storyngel. Ved å ha en lang fotoperiode (18 og 24 timer lys) viste yngel bedre vekst og føringseffektivitet enn ved kortere fotoperioder (6 og 12 timer lys) (El-Sayed and Kawanna, 2004). En mulig grunn til dårligere vekst hos yngel i kortere fotoperiode er fordi tiden med lys er for kort til at fisken oppretter en robust rytme. Overlevelse, deformiteter og gonadeutvikling ble ikke påvirket av lysmanipulering (Veras et al., 2013). Selve synkroniseringen av den endogene rytmen til eksterne miljøfaktorer kan kreve mer energi og redusere somatisk vekst når fotoperioden er kortere. Andre har ment at når fotoperiodene er lengre vil den metabolske raten reduseres. Dermed vil bruken av optimal fotoperiode i lukkede systemer i tilapiaoppdrett være viktig for å senke metabolismen slik at fisken bruker mer energi på somatisk vekst. Dette leder til bedre tilvekst hos fisken samt økt profitt (El-Sayed, 2020).

Man ser lav gyteaktivitet ved lavere lysintensitet, men det finnes få studier som tar for seg denne effekten av lysintensitet. Det er vist hos tilapia at en lysintensitet på 2500 lux og en fotoperiode med 18 timer lys i løpet av en dag er det beste for eggproduksjon (Ridha and Cruz, 2000). Normal daglengde (12 timer lys og 12 timer mørke) har vist seg å gi best gonadeutvikling, reproduksjon og gytingsfrekvens (El-Sayed, 2020).

Carvalho og medarbeidere (Carvalho et al., 2013) har sett på effekten av økt lysintensitet på aggressiv atferd hos voksne tilapia hanner, der høy lysintensitet viste en økt frekvens av aggressiv atferd hos hannene. Hierarkiet av dominante individer endret seg ikke ved høyere eller lavere lysintensitet. Det ble konkludert at ved å øke lysintensiteten viste en kumulativ effekt som øker aggressiv atferd hos hannene, men vil ikke påvirke det sosiale hierarkiet.

Når lysintensiteten øker, ser man lavere forekomst av aggressivitet hos juvenil fisk. Man antar at dette er en naturlig mekanisme hos juvenil fisk for å redusere predatorrisiko ved at man blir mer synlig. Ved å eksponere eldre hannkjønn for høyere lysintensitet vil de være generelt mer aggressive for de ønsker å kjempe om territoriet og tiltrekke hunnkjønn til paring (El-Sayed, 2020).

For dannelsen av visuell sensitivitet og evnen til å motta signaler, spiller lys fra miljøet en viktig rolle. Ved undersøkelse av spektralfølsomhet hos juvenile tilapia ser man at kortere bølgelengder viste størst avvik mellom fisken som levde under bredspektret lysbehandling og rød-skiftende lysbehandling. Hos voksne tilapia ser man ikke samme forskjell under de to ulike lysforholdene, og man så ingen forskjell på spektralfølsomheten. Blant juvenile og voksne tilapia så man ingen forskjell på transmisjon av lys over linsen i forhold til de ulike lysbehandlingene, dermed antas det at spektralfølsomheten oppstår i retina. Man så forskjell mellom juvenile og voksne i forhold til spektral refleksevne i ulike lysbehandlinger. Dette viser at lys fra miljøet spiller en viktig rolle for dannelsen av visuell sensitivitet og evnen til å

motta signaler hos juvenile (Hornsby et al., 2013). Larver har vist seg å være en visuell spiser som foretrekker mørkere farget fôr, storyngel har ikke vist slik preferanse. Denne preferansen kan skyldes at selve utviklingen av retina i larvestadiet (El-Sayed, 2020).

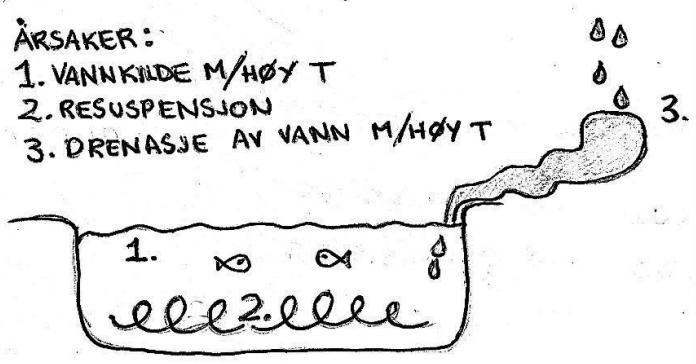
## Vannturbiditet

I semi-intensive fertiliserte ferskvannsdammer kan vannturbiditet være et stort problem. Det er flere årsaker til turbiditeten i vannet, det kan være at vannkilden i seg selv har høy turbiditet, det kan forekomme resuspensjon av gjørmen som ligger på bunnen når vannet og fisken beveger seg, i tillegg kan regnvann som dreneres fra dammer inneholde gjørmemateriale (El-Sayed, 2020).

### VANNTURBIDITET ( $\tau$ )

#### ÅRSAKER:

1. VANNKILDE M/HØY T
2. RESUSPENSJON
3. DRENASJE AV VANN M/HØY T



Figur 7: Tegnet av Ingeborg Sørensen Stene (2020)

Partikler som er for store til å løses opp, men i tillegg for liten til å påvirkes av tyngdekraftens effekt vil utgjøre vannets partikkelmengde. I stille vann vil slike kolloide partikler forbli suspendert i vannet, større partikler vil forbli suspendert på grunn av vannturbulens. Oppløste substanser sammen med suspenderte partikler vil påvirke fargen på vannet og gjøre vannet mindre transparent. Dette interfererer med lyspassasjen som igjen vil øke vannturbiditeten. Partikler oppløst i vann kan både være uorganisk og organisk materiale slik som levende organismer, jordpartikler, avfall og restmateriale. Ved økt turbiditet vil den restriktive

lyspassasjen føre til hemming av plantevekst i akvatiske økosystem. I naturlig vann som ikke er forurensset vil den totale konsentrasjonen av suspendert organisk materiale vanligvis ligge rundt 5mg/L, mens næringsrikt vann som inneholder rikelig med plankton ligger på 50 mg/L eller mer (Boyd, 2015).

Når suspensjonen av kolloide partikler blir for høy vil det kunne redusere gjødslingseffekt, vannet kan bli surt, vannet får dårligere lypassasje og alt dette kan ha en negativ innvirkning på produktiviteten i jorddammer. For å minimere turbiditetens negative effekter på produktivitet og fiskevekst i tilapiaproduksjon i dammer er det viktig med avbøtende teknikker (El-Sayed, 2020). Fra et forsøk som ble utført i femten jorddammer i Thailand ble det undersøkt kilder til leireturbiditet og evaluert avbøtende tiltak mot leireturbiditet og hva slags effekt de har på veksten av sex-reversert all-male Nile tilapia og på vannkvaliteten. Dette ble gjort for å finne en passende tilnærming man kan bruke for å kontrollere turbiditeten når det er regnsesong. Fem typer avbøtende behandlinger som ble undersøkt var å: i) dekke til det øvre delen (50 cm) av dammen med sort plastikkmateriale slik at turbiditeten ikke økte på grunn av avrenning (dekke kanter), ii) dekke til bunnen av dammen med grønn gjødsel (terrestrial weeds) slik at man endrer jordstrukturen (dekket av ugress), iii) dekke bunnen av dammen med et lite nett (1cm) for å hindre turbiditeten fra fiskens bevegelser (dekke bunnen), iv) dekke dammen med risrør (dekket av rør) og en kontrollgruppe. Alle dampene ble tilsatt samme type gjødsel ukentlig fra kylling sammen med tilskudd av urea og trippel superfosfat. Resultatet viste at gjørmeturbiditeten i hovedsak kom av avrenningen til dammen og ikke av forstyrrelser fra fisken i bunnforholdene under reinsesongen. Derfor foreslo forskerne i denne studien at et effektivt avbøtende tiltak mot turbiditet kan være å dekke til øvre lag av dammen slik at man hindrer tilførsel av avrenning i dammen. Best vekstrate og utbytte ga både dampene dekket av risrør og ugress, dette kunne være på grunn av at naturlig føde ble mer

tilgjengelig, metabolske og nedbrytningsprodukter fra plantemateriale forbedret damvannet og reduserte skyggeeffekten av vann med høy turbiditet, aggregering av gjørme-partikler og algeceller kan ha forårsaket sedimentering av større partikler i tillegg til absorpsjon av gjørme på ugresset og risrørene. Ved å dekke dampmene med risrør så man en signifikant reduksjon av gjørmeturbiditet som er forårsaket av avrenning, man så også en bedre fiskevekst på grunn av biofilmdannelse på risrørene. Det ble ikke observert noen signifikant forskjell på fiskens overlevelse i jorddammene sammenlignet mellom de ulike metodene. Det ble foreslått at den mest kost-effektive måten å optimalisere turbiditeten i vannet på under reinsesongen var å dekke til jorddammer med risrør (Yi et al., 2003).

### **Sammenligning av miljøutfordringer i semi-intensive og intensive produksjonssystemer**

I 2017 var den totale produksjonen av tilapia oppdrettet i ferskvann tilnærmet 82,6% (av totalproduksjon). En av de største produsentene av tilapia i verden er Asia som i hovedsak produserer tilapia i ferskvannsmiljø (El-Sayed, 2020). Som tidligere nevnt stammer over 90% av all oppdrettet tilapia fra semi-intensive produksjonssystemer. Ved å se på den semi-intensive produksjonen i vanndammer sammen med miljøfaktorer, så ser man at produksjonsforholdene i stor grad preges av værforhold som styrer mye av vannkvaliteten og sammensetningen av næringsstoffene i vannet. Dermed vil faktorer som oksygenmetningen i vannet, riktig gjødsling, dampens dybde og utforming, ammoniakk- og nitritt-konsentrasjoner, pH, alkalinitet og vannturbiditet være utfordrende for en slik produksjon. Temperatur kan i liten grad styres og avhenger derfor heller av at fisken har tilstrekkelig dype og godt utformede dammer hvor de selv kan regulere temperaturen ved å gå dypere eller høyere i vannmassene. Fotoperiode avhenger av sollystilgang og er dermed en variabel som er vanskelig å kontrollere, det vil også innvirke på fotosyntesen i dampene, samt at vannturbiditeten avgjør hvor god lyspassasjen er.

Intensive produksjonssystemer bidrar i mye mindre grad til den totale produksjonen av tilapia, men i en slik produksjon ser man utfordringer med vannkvalitet, temperatur, salinitet, ammoniakk, pH, oppløste metabolitter, ernæring og føring. I intensiv produksjon er det lettere å kontrollere miljøforholdene til fisken enn i semi-intensiv produksjon, men på grunn av høy dyretetthet og større produksjon vil man være mer avhengig av røktere og teknologi for best vekst og overlevelse.

## Infektionssjukdomar

Teorin om att Nile tilapia är en stresstålig, robust fisk som enkelt anpassar sig till miljöförändringar har länge varit sann men den snabbt växande produktionen har gett fisken sämre förutsättningar att stå emot infektioner (Surachetpong et al., 2020) (Jansen et al., 2018). Den viktigaste orsaken till mortalitet i fiskindustrin per idag är infektionssjukdomar (Eldeen et al., 2017). Ändringar i näring, ökad biomassa, längre transporter, mer hantering, sociala interaktioner och hierarki skapar stress som leder till reducerad motståndskraft mot infektioner. Detta har resulterat i ett större fokus på ny forskning, teknologi och framtagning av nya management metoder för att förebygga och behandla sjukdomar. Idag är infektionssjukdomar en stor begränsning i vidare expansion av industrin globalt (El-Sayed, 2020).

I denna del fokuseras det på utmaningar inom Nile tilapia produktion som orsakas av infektiösa sjukdomar. Ett urval av de viktigaste sjukdomarna globalt presenteras med fokus på aktuella utmaningar inom respektive agens.

### Bakterier

Bakteriella infektioner är en av de största utmaningarna i Nile tilapia produktion och står för 55 % av sjukdomsutbrottet i akvakultur (Surachetpong et al., 2020).

#### *Streptococcus agalactiae*

##### **Beskrivning**

*S. agalactiae* är en grampositiv icke motil kock med oxidase-negativa och katalase-negativa egenskaper. Klassificeras i Lancefield grupp B med både icke-hemolytisk och beta-

hemolytisk stam (Anshary et al., 2014). Bakterien är en av de absolut viktigaste patogenerna som drabbar Nile tilapia produktion i färskvatten över hela världen (Wang et al., 2019). 29 stammar har identifierats som alla är mycket virulenta för Nile tilapia och växer bäst > 26°C (Nikuli, 2009). *S. agalactiae* har delats in i 2 genotyper. Genotyp I innehåller serotyp Ia tillsammans med alla virulensgener (adhesiner, invasiner och undvikande av immunförsvar) och är mer frekvent i anläggningar med utbrott. Genotyp II innehåller serotyp Ib och alla utom en virulensgen (Legario et al., 2020). Bakterien ger meningioencefalit och septikemi och fisken blir letargisk, får exoftalmus, blödningar, ascites, svårigheter att hålla balansen och inappetens vilket ger upp till 90 % mortalitet. Florfenikolbehandling via foder är den vanligaste behandlingsmetoden (de Oliveira et al., 2018). *S. agalactiae* har zoonotisk potential och orsakar allvarlig sjukdom hos människor (Delannoy et al., 2013).

### ***Globalt perspektiv***

Bakterien är förekommande över hela världen i bland annat länder som Kina, Vietnam, Thailand, Kuwait, Iran, Malaysia, Australien, Egypten, Israel, Iran, Filippinerna, Indonesien, Irland, Brasilien, Honduras, USA, Costa Rica, México och Colombia (de Oliveira, 2016). *S. agalactiae* är en viktig orsak till sjukdom och mortalitet i Filippinerna där man börjat behandla fisken med amoxicillin per oralt (Legario et al., 2020). Kina har under åren 2009 till 2011 haft stora problem med bakterien som gett 30-80 % mortalitet (Wang et al., 2019). Det finns ingen geografisk, fysiologisk eller miljömässig förklaring till spridningen av *S. agalactiae* genotyp I och II (AQUAVAC, 2017b).

### ***Utmaningar***

#### *Predisponerande faktorer*

Vattentemperatur > 27°C, hög täthet, dålig vattenkvalitet och intensiv hantering predisponerar för utbrott och förebyggande åtgärder är därför viktigt för att bevara fiskens motståndskraft (de Oliveira, 2016). Friska smittbärare fungerar som reservoar och ökar risken för infektion och reinfektion då bakterien förblir i miljön (Tavares et al., 2016).

### *Persistens*

Otillräcklig behandlingseffekt har rapporterats av florfenikol samt sjukdomsåterfall efter behandling. Möjliga orsaker kan vara resistens, otillräcklig behandlingsdos eller inadekvat distribution av läkemedlet i vävnaden. Hög vattentemperatur på sommarhalvåret ökar metabolismen av florfenikol vilket kan ge för kort behandlingstid. Brister i distribution av läkemedlet kan föreligga då det saknas dokumentation om läkemedlets potential att korsa blod-hjärn-barriären. Bakterien infekterar hjärnvävnad och det är därför en förutsättning för effektiv behandling. Orsaken till låg behandlingseffekt beror sannolikt på persistens hos bakterien, en överlevnadsstrategi som resultat av miljörelaterade stimuli. Det karakteriseras av att en del av bakteriepopulationen växlar mellan två fenotyper där den persistenta bakterien reducerar sin ämnesomsättning till den grad att proteinsyntes knappt existerar vilket gör att florfenikol inte kan utöva sin effekt. Efter behandling kan bakterien växla fenotyp och aktivera infektion igen (de Oliveira et al., 2018). Till skillnad från resistens är persistenta bakterier genetiskt identiska med andra mottagliga bakterier (de Oliveira, 2016). Vissa källor hävdar att det enbart är dokumenterad resistens mot trimetoprim-sulfa (Legario et al., 2020) medan andra rapporterar om resistens mot gentamycin, kanamycin, trimetoprim, ampicillin, penicillin, oxytetracyklin och erytromycin (de Oliveira et al., 2018).

### *Vaccin*

Studier har gjorts med injektion av helcellvaccin, extracellulära (sub-enhet) vaccin samt en kombination av dem där kombinationen gav bäst specifik och icke-specifik immunitet om det

gavs 3 veckor innan frisättning av äggen. Det ger också bäst lysosomal aktivitet vilket är en viktig komponent i medfödda immunsystemet där den bryter ner peptidoglykaner som är huvudbeståndsdelen i bakteriens cellvägg (Sukenda et al., 2018). På grund av partiell korsimmunitet mellan *S. agalactiae* och *S. iniae* kan vaccinering mot *S. agalactiae* också skydda mot *S. iniae*. Mekanismer som ligger till grund för korsimmuniteten är inte helt kända men några bakterier delar gemensamma抗原er som kan inducera korsimmunitet. Vaccin med formalindöda celler (FKC) som administreras intraperitonealt gav bäst skydd i form av IgM respons. Vaccin riktat mot *S. agalactiae* gav bättre skydd mot *S. iniae* än motsatt (Wang et al., 2019). Kunskap om korsimmunitet har använts av MSD som 2019 lanserade ett gemensamt vaccin för *S. agalactiae* serotyp Ib och *S. iniae* som heter AQUAVAC Strep Sa-Si. Det används i Latinamerika som badvaccin och full effekt uppnås efter 1 vecka och har en hållbarhet över 6 månader, vilket är hela produktionscykeln för Nile tilapia. Det är ett viktigt steg i utvecklingen åt ökad tillväxt av fiskindustrin (MSD Animal Health, 2019). AQUAVAC Strep Sa1 är ytterligare ett bivalent vaccin som skyddar mot *S. agalactiae* serotyp Ia hos Nile tilapia (AQUAVAC, 2017a). Nile tilapia är mottaglig för infektion från 5 gram. Det är viktigt att vaccinera fisken vid rätt tidpunkt för att ge optimalt skydd (AQUAVAC, 2017b). Från 3 gram kan fisken vaccineras med badvaccin och från 20 g sker vaccinering via intraperitoneal injektion (AQUAVAC, 2017c).

#### Zoonotisk potential

*S. agalactiae* sekvenstyp ST283 serotyp III-4 har detekterats hos både fisk och människa vilket indikerar överförbarhet mellan dem men mer studier krävs för att bestämma sannolikheten för detta (Delannoy et al., 2013).

### ***Streptococcus iniae***

#### **Beskrivning**

*S. iniae* är en fakultativ anaerob, icke motil grampositiv kock med oxidase-positiva, katalase-negativa och beta-hemolytiska egenskaper. Det är en ubikvitär opportunist i färskvatten och saltvatten som växer bäst vid 25-30°C. Smittar via injektion, inhalation eller sår i huden och har zoonotisk potential (Buller, 2014). *S. iniae* är en förödande bakterie som drabbar Nile tilapia produktionen och ger enorma ekonomiska förluster årligen (Wang et al., 2019). Sjukdomen kallas ”Streptococciosis” och genererar blödning, meningioencefalit, septikemi, exoftalmus, abscesser på magen, letargi, svårigheter med att simma och hög mortalitet (Figueiredo et al., 2012). Sjukdomen kallas även för ”golfboll sjukdomen” på grund av dess abscesser (Buller, 2014).

#### **Globalt perspektiv**

Bakterien har rapporterats över hela världen och är ett hot mot ekonomi och fiskhälsa. Stora utbrott har beskrivits i bland annat Nordamerika, Taiwan, Indien och Japan som resulterat i hög mortalitet. Liknande symptom oberoende av geografisk lokalisering har rapporterats (El-Sayed, 2006). Brasilien är också hårt drabbat men behandling med florfenikol har varit effektivt (Figueiredo et al., 2012). Filippinerna har stora utmaningar med bakterien (Legario et al., 2020) och Kina drabbades av hög mortalitet åren 2006-2007 (Wang et al., 2019). Ecuador, Honduras, Indonesien Vietnam, México och Singapore har också hög prevalens (AQUAVAC, 2017b).

## **Utmaningar**

### *Predisponerande faktorer*

Stressfulla situationer så som hög täthet, ökning i temperatur, ovarsam hantering, suboptimala syrenivåer, dålig vattenkvalitet och storlek på fisken ökar risk för infektion. Större fisk (> 100 g) är mer känslig mot infektion (Fawzy et al., 2014). Prevalensen för *S. iniae* ökar vid förekomst av Gyrodactylus infektion (Nikuli, 2009). I Brasilien, där bakterien har varit ett stort problem, har utbrott förknippats med hög täthet och hög vattentemperatur (30°C) (Figueiredo et al., 2012). Ökad biomassa leder till stress och hög smittpress. Höga temperaturer är både stressande för fisken samtidigt som det ger bakterien förutsättning att växa. Intensiva odlingar med stora recirkuleringsanläggningar har möjlighet att reglera temperatur men det kan vara svårt för semi-intensiva anläggningar som exponeras för sol stora delar av dagen. Höga temperaturer ger akut infektion med hög mortalitet medan lägre temperaturer ger kronisk infektion med persisterande mortalitet (The Fish Site, 2006).

### *Resistens*

Endast oral antibiotikabehandling tidigt i sjukdomsförloppet är effektivt då fisken fortfarande har aptit. Aptiten reduceras hos sjuk fisk vilket ger otillräcklig behandling som i sin tur selekterar för resistenta bakterier (The Fish Site, 2006). Florfenikol är den vanligaste behandlingen som används på Nile tilapia och badbehandling är möjligt om oral behandling inte är aktuellt (de Oliveira et al., 2018).

### *Vaccin*

Det är flera rapporter som beskriver vaccination mot *S. iniae* infektion och olika administrationssätt beskrivs ge varierande effekt (Figueiredo et al., 2012), (Pridgeon and Klesius, 2011a), (Shoemaker et al., 2006). I november 2019 lanserade MSD vaccinet

AQUAVAC Strep Sa-Si i Latinamerika mot både *S. iniae* och *S. agalactiae* som är en viktig förutsättning för vidare tillväxt i Nile tilapia produktionen (MSD Animal Health, 2019).

### ***Aeromonas hydrophila***

#### **Beskrivning**

*Aeromonas hydrophila* är en opportunistisk, fakultativt anaerob, gramnegativ motil stavbakterie med oxidase-positiva, katalase-positiva och nitrat-positiva egenskaper. Färskvatten och brackvatten med 25-37°C är optimalt för utbrott och produktion av toxinerna aerolysin och hemolysin är viktiga virulensfaktorer (Buller, 2014). Bakterien orsakar sjukdomen ”Motil Aeromonas Septikemi (MAS)” och är bara motil i varma temperaturer (Hanson et al., 2019). Sjukdomen ger hemorragisk septikemi, fenröta, hudröta och inappetens (Bjelland, 2020). Hemorragisk splenomegali, hepatomegali, exoftalmus och ascites är andra vanliga symptom. Det är en av de vanligast förekommande bakterierna som drabbar Nile tilapia produktionen i världen (Buller, 2014) och orsakar hög mortalitet (El-Sayed, 2006).



Figur 8: a. Exoftalmus b. Ascites c. Lesioner i hud och fenröta (Dorgham, 2014)

#### **Globalt perspektiv**

Bakterien har rapporterats över hela världen (Buller, 2014). Södra Kina och Filippinerna har drabbats hårt av hög mortalitet i perioder (El-Sayed, 2006). I Egypten har det rapporterats om

73 % prevalens av bakterien (Hamouda et al., 2019). Stora produktionsproblem orsakat av *A. hydrophila* har också rapporterats från Elfenbenskusten (Kouassi et al., 2018). Symptom verkar vara oberoende av lokalisering (Dorgham, 2014).

## ***Utmaningar***

### *Predisponerande faktorer*

Bakterien är ubikvitär i miljön som fritt simmande, i biofilm och i GI trakten och kan under ogynnsamma förhållanden bidra till allvarliga sjukdomar och enorma ekonomiska förluster (Hamouda et al., 2019). Immunsuppressiv fisk är mest utsatt (Kouassi et al., 2018). Föroringar, hög täthet, otillräcklig desinfektion, död fisk, låga syrenivåer och dåligt foder reducerar motståndskraften mot infektion (Bjelland, 2020). Utbrott är ofta associerat med miljöförändring, ovarsam hantering och hud lesioner orsakat under transport eller sekundärt till virus, parasiter eller svamp (Hamouda et al., 2019). En viktig förebyggande faktor är därför att reducera förekomst av parasiter och andra agens i fiskens miljö (Hanson et al., 2019). Det grunda vattnet i dammarna i kombination med snabba temperaturförändringar predisponerar för infektion (Kouassi et al., 2018) och den snabbt växande produktionen av Nile tilapia i världen har resulterat i sämre förutsättningar för fisken med högre täthet, ojämna temperaturer och otillräcklig ventilering (Dorgham, 2014). Aeromonas är dessutom en duktig biofilmproducent som gör det svårt att helt eliminera bakterien i produktionen (Hanson et al., 2019).

### *Resistens*

Bakterien är resistent mot penicillin och andra relaterade antibiotikum (Hanson et al., 2019). Frekvent användning av antibakteriella medel har resulterat i en omfattande resistensutveckling (Bjelland, 2020). En studie utförd i USA visade att Aeromonas var helt

eller delvis resistent mot amoxicillin, ampicillin och streptomycin, gentamycin, trimetoprim-sulfametethoxazole och oxytetracyklin. Bakterien var sensitiv mot cefotaxime och kloramfenikol (Abu-Elala et al., 2015).

### Vaccin

Vaccin mot *A. hydrophila* är svårt att utveckla på grund av att bakterien består av många stammar med stor diversitet (Mzula et al., 2019). *A. hydrophila* är mycket heterogen biokemiskt och serologiskt vilket utgör ett stort hinder i utvecklingen av ett kommersiellt vaccin (Pridgeon and Klesius, 2011b). Många bakteriestammar av *A. hydrophila* har ett ytantigen kallat S-laget som är en viktig virulensfaktor involverad i bland annat biofilmformation och mikrobiell resistens. Detta gemensamma antigen kan man utnyttja i utveckling av ett vaccin (de Santa Lacerda et al., 2015). Per idag finns inget effektivt vaccin mot *A. hydrophila* men det är under utveckling (Bjelland, 2020).

### Fördelaktiga egenskaper

*A. hydrophila* är en ubikvitär bakterie som förekommer fritt i vatten, biofilm, jord och lera samt i friska fiskar över hela världen vilket utgör en viktig reservoar för bakterien. Det är en biofilmproducent som möjliggör överlevnad trots desinfektion och dåliga miljöförhållanden. Fisk som kommer i kontakt med biofilmytan kan få skadad hud samtidigt som den frisätter bakterier som kan infektera via huden. Bakterien har också möjlighet för komplicerad kemisk kommunikation så att de kan interagera med varandra utanför och i fisken och reglera virulensfaktorer och enzymer som skadar fisken (Hanson et al., 2019).

## ***Flavobacterium columnare***

### **Beskrivning**

*F. columnare* är en aerob gramnegativ stav med katalase-positiva egenskaper som tillhör familjen *Flavobacteriaceae* (Mitiku, 2018). Bakterien är opportunistisk och en del av normalfloran i vatten och fiskens mikrobiota (de Alexandre Sebastião et al., 2013). Sjukdomen uppstår i både kalla och varma färskvattentemperaturer och kallas ”fenröta”. Respirationssymptom, pigmenterad hud, slemsekretion, sår på gälar, fenor, hud och muskel samt dålig tillväxt är vanliga symptom (El-Sayed, 2020). ”Hål i huvudet” är klassiskt fynd hos infekterad Nile tilapia. Bakterien smittar horisontalt och har en karakteristisk gul färg på agar (Eissa et al., 2010a, Eissa et al., 2010b). Optimal temperatur för växt är 25-35°C (Buller, 2014). *F. columnare* delas in i 3 genetiska grupper där grupp II är den mest virulenta (Wenlong et al., 2013).



Figur 9: A. Hudulcerationer på huvudet. C. Fenröta D. Corneal opacitet (Eissa et al., 2010b)

### **Globalt perspektiv**

Bakterien har en bred geografisk distribution och ett brett spektra av arter den infekterar. Den är mycket vanligt förekommande i USA (Mitiku, 2018). 2009 utbröt massmortalitet i Egypten i samkulturer med flera arter (Eissa et al., 2010a, Eissa et al., 2010b).

## **Utmaningar**

### *Predisponerande faktorer*

Sjukdomsutbrott associeras ofta med stressrelaterade förhållanden så som hög och låg temperatur, höga nivåer av ammoniak, dålig miljö och oförsiktig hantering (El-Sayed, 2020). Vattenhastigheten är också en nyckelfaktor för infektion då kontakttiden ökar vid lägre vattenhastighet. Gälarna är det primära smittspridande organet där död fisk har visat sig sprida smitta än levande fisk och regelbunden eliminering av död fisk är därför viktigt. En annan utmaning är att bakterien kan överleva fritt i vatten upp till 16 dagar vid 25°C, förutsatt att vattnet är hårt, alkaliskt och innehåller höga nivåer av organiskt material (Declercq et al., 2013). Den långa överlevnaden i miljön gör att direkt smittöverföring inte är nödvändig för att infekteras. Vattnet fungerar som reservoar vilket gör bakterien svår att kontrollera (Wenlong et al., 2013). Förebyggande faktorer är därför låg täthet, låg nitritnivå, låg nivå av organiskt material, optimal temperatur, högre salinitet och ozonbehandling av vattnet. Infekterat vatten kan behandlas med saltsyra. Genom målinriktad avel önskar man fisk som tål högre salinitet (Declercq et al., 2013).

### *Resistens*

Bakterien är mottaglig för oxytretracyklin, kloramfenikol och erytromycin (El-Sayed, 2020). Däremot har antibiotikaresistens rapporterats mot kinoloner och tetracyklin och alternativa behandlingsmetoder samt förebyggande åtgärder är därför av högsta relevans (Mitiku, 2018).

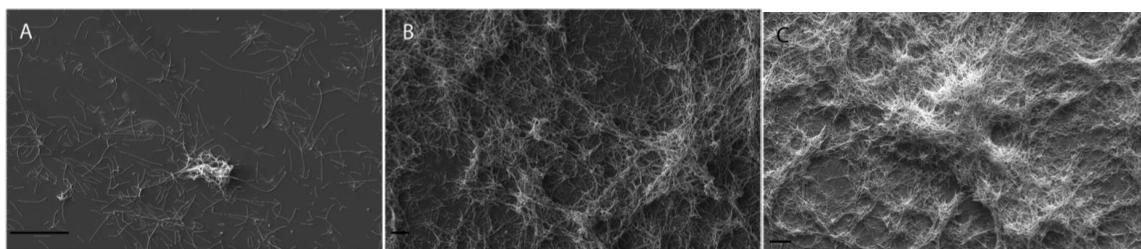
### *Vaccin*

Det finns intraperitoneala vaccin och badvaccin på marknaden som har gett effektiv immunitet mot *F. columnare*. Full immunitet uppnås 2 veckor efter vaccinering och 10 veckor efter vaccinering hade fisken fortfarande mycket höga antikropptiter (Grabowski et al., 2004).

Vaccin som har använts för Nile tilapia är formalin-döda celler med adjuvans administrerat intraperitonealt som gav långvarig humoral respons (Declercq et al., 2013).

### Biofilm

*F. columnare* är en biofilmproducerande bakterie som gör att den kan skydda sig från uttorkning och desinfektion. Biofilm fungerar som reservoar där bakterier kan uppehålla sig under lång tid och frisättas periodvis, den bidrar på så sätt till antibiotikaresistens. Biofilmproduktionen går mycket snabbt, redan efter 6-12 h har bakterier börjat fästa vid ytan och efter 48 h är den täckt med tjock biofilm. I ett försök utsätter man frisk fisk för biofilm innehållande *F. columnare* som får symptom < 12 h efter exponering och 100 % mortalitet efter 48 h. Försöket använde inte Nile tilapia men det indikerar att biofilm som reservoar har stor betydelse för infektion och reinfektion (Wenlong et al., 2013). *F. columnare* utvecklar sig likt oberoende av fiskart men ger variationer i mortalitet (Mitiku, 2018). Vattentemperaturer på 28-35°C ger mer bakterieväxt än vid 21°C. Andra faktorer som salinitet och hårdhet på vattnet påverkar biofilmproduktionen. En förebyggande åtgärd är därför att reducera hårdheten på vattnet för att hämma biofilmproduktionen (Wenlong et al., 2013).



Figur 10: Biofilmproduktion. A. Bakterier efter 12 h på en ren yta B & C. Bakterier efter 48 h på en ren yta (Wenlong et al., 2013).

### Probiotika

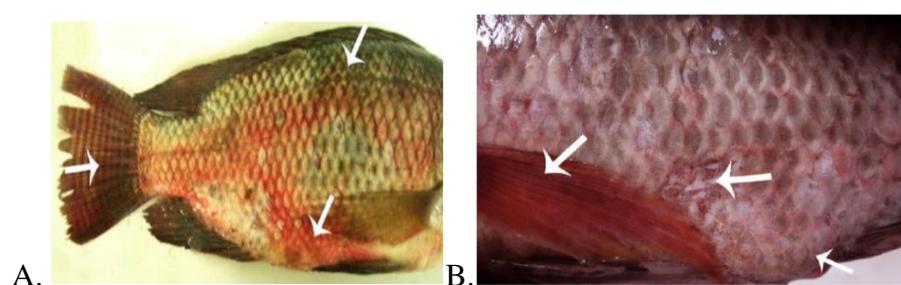
Probiotika kan också vara ett förebyggande alternativ i framtiden. Det har gjorts fodertester där fisken har fått äta diet innehållande mycket fett och jästprebiotika vilket har reducerat

dödigheten av *F. columnare* avsevärt. Testerna är inte utförda på Nile tilapia men kan ge en indikation på att probiotika hade gett liknande effekt (Kunttu et al., 2009).

### ***Edwardsiella tarda***

#### **Beskrivning**

*Edwardsiella tarda* är en motil, fakultativ anaerob, intracellulär gramnegativ stavbakterie med oxidase-negativa och katalase-positiva egenskaper och tillhör familjen *Enterobacteriaceae*. Bakterien växer bäst vid 20-30°C men kan växa mellan 15-42°C och orsakar sjukdom främst på vinter och vår (Buller, 2014). Bakterien finns i färskvatten och förekommer på hud, fenor och gälar samt tarm och muskler och ger granulomatös inflammation med nekrotisk meningit, vaskulit och encefalit (El-Sayed, 2020). Ascites, exoftalmus, blödning i inre organ, onormalt sim beteende och kronisk mortalitet har också rapporterats (Rodrigues et al., 2018). Det är förmågan att undgå fagocytos och producera hud toxin och hemolysin som ger fisken dess systemiska infektioner. *E. tarda* bidrar till hög mortalitet och stora ekonomiska förluster för industrin över hela världen (Pirarat et al., 2006).



Figur 11: A. Hemorrhagiska lesioner i huden. B. Tappade fjäll och ulceration i huden (El-Seedy & El-Galil, 2015).

### **Globalt perspektiv**

Det har rapporterats utbrott med hög mortalitet i Japan (El-Sayed, 2020). Bakterien har isolerats i många arter lokaliserade i många olika länder över hela världen och Korea har varit ett av dem som drabbats hårt (Park et al., 2012). Stora ekonomiska förluster på grund av infektion hos Nile tilapia har rapporterats i USA, Indien, Japan (Hassan et al., 2019), Kina, Spanien och Brasilien. Då den har ett brett temperaturintervall har den också gett många utbrott i Brasilien på sommar och höst (Rodrigues et al., 2018).

### **Utmötande**

#### *Predisponerande faktorer*

Bakterien orsakar sjukdom hos stressad fisk vid temperaturer  $> 30^{\circ}\text{C}$ , dålig vattenkvalitet med mycket organiskt material (Park et al., 2012). Den är ubikvitär och många arter fungerar som reservoar vilket gör bakterien svår att kontrollera (Bullock and Herman, 1985). Den har dessutom zoonotisk potential då den kan ge gastroenterit, meningit, sårinfektioner och mortalitet hos människor (Hassan et al., 2019).

#### *Resistens*

Redan 1980 rapporterades det om antibiotikaresistens efter att ha behandlat fisken med foder innehållande terramycin (Bullock and Herman, 1985). *E. tarda* är en intracellulär bakterie och det är därmed svårt att hitta effektiva antibiotikum samtidigt som man sett resistens hos alla stammar (Rodrigues et al., 2018).

#### *Vaccin*

Forskningen har lyckats ta fram effektiva vaccin vid ett flertal tillfällen, dock har många av de bara kortvarig effekt (El-Jakee et al., 2008). Det finns vaccin som är effektiva efter 9 dagar

men varigheten av immuniteten benämns inte (Herlina et al., 2019). Vaccin i form av en proteinbindande polysackarid som injiceras intraperitonealt har utvecklats (Park and Jeong, 1996) och ger ökad aktivitet av det ospecifika immunförsvaret och därmed ökad fagocytos av bakteriecellerna. Full effekt uppnåddes 1 vecka efter injektion men höll dock endast i 21 dagar (Park et al., 2012).

### *Probiotika*

Effekten av kosttillskott i form av probiotika av *Lactobacillus rhamnosus* har studerats och visat sig skydda mot infektion. Det är dessutom tryggt att använda till matproducerande djur. Fisk som behandlats med probiotika hade en större förmåga till fagocytos på grund av en högre alternativ komplementaktivering. Dessutom förebyggs nekros av tymus som infektionen annars hade orsakat, vilket resulterar i en immunsupprimering som hindrar en immunrespons mot *E. tarda*. Generellt har probiotika flera funktioner på immunresponsen. Bland annat inducerar den proinflammatoriska cytokiner, ökar produktion av antikroppar på slemhinnor och systemiskt, aktiverar NK celler och aktiverar fagocytos (Pirarat et al., 2006). Probiotikan *Lactobacillus plantarum* i Nile tilapia har visat sig ha immunmodulerande egenskaper och skyddar mot *E. tarda* i upp till 14 dagar efter experimentell infektion (Sherif et al., 2020).

### *Pseudomonas fluorescens*

#### **Beskrivning**

*Pseudomonas fluorescens* är en motil gramnegativ stavbakterie med oxidase-positiva egenskaper och tillhör familjen *Pseudomonadaceae*. Sjukdomen kallas för ”Röd hud sjukdom” och förekommer i färskvatten och saltvatten (Mohamed, 2012). Den ger hemorragisk septikemi (Younes et al., 2015), abscesser i inre organ, exoftalmus,

pigmentering i huden, ascites, granulom och fokal nekros med blödning (El-Sayed, 2020). Den ger främst utbrott under vinter och vår (15-20°C) (Buller, 2014) men den kan förekomma året runt. Bakterien kan infektera många olika akvatiska arter i olika delar av världen och klassificeras som en av de mest patogena bakterierna som infekterar Nile tilapia (Younes et al., 2015). Förekommer ofta som en sekundär bakterie som infekterar via skadad hud och undgår immunsystemet genom att inducera apoptosis av värdceller (Hal and El-Barbary, 2020).



Figur 12: b. Ulcerationer och fenröta. d. Kollapsat öga och fenröta (Wamala et al., 2018).

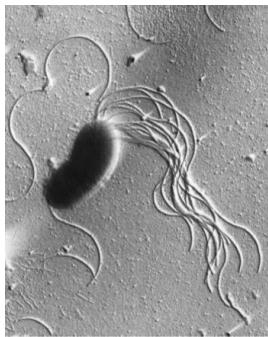
### **Globalt perspektiv**

1984 var bakterien ett stort problem i Japan och skapade hög mortalitet (El-Sayed, 2006). Stor förekomst även i Egypten (Eissa et al., 2010a). Prevalensen av *P. fluorescens* hos naturligt infekterad fisk i Egypten var 30-60 % (Younes et al., 2015).

### **Utmötande**

#### *Predisponerande faktorer*

*P. fluorescens* är en opportunistisk patogen som tillhör normalfloran hos fisken och är ubikvitär i miljön. Utbrott är stressrelaterat och sker vid obalans i miljön när normala miljöparametrar förändras (Eissa et al., 2010a). Utbrott är också ofta förknippat med ovarsam hantering och transport (Younes et al., 2015). Patogeniteten hos bakterien beror främst på infektiv dos, täthet och temperatur (Zaki et al., 2011).



Figur 13: *P. fluorescens* (Scales et al., 2014).

#### Vaccin

Vaccin i fiskindustrin är viktigt av två anledningar vilket är den ekonomiska förlusten som drabbar industrin vid ett sjukdomsutbrott samt miljömässiga och hälsomässiga aspekter vid antibiotikabehandling. Det finns idag flera olika typer vaccin på marknaden, bland annat helcell vaccin, ytter membranprotein vaccin och extracellulära produktvaccin. Dock varierar effekten av befintliga vaccin och per idag finns inget kommersiellt vaccin på marknaden mot *P. fluorescens* (Mohamed, 2012).

#### Resistens

Antibiotika har använts frekvent mot bakterieinfektioner och *P. fluorescens* har påvisat resistens mot ampicillin, amoxycillin, metronidazol, trimetoprim-sulfa (Younes et al., 2015) medan florfenikol och enrofloxacin har effekt (Zaki et al., 2011). Frekvent antibiotikabehandling till matproducerande djur påverkar folkhälsan och miljön och alternativa metoder måste därför utvecklas (El-Sayed, 2020). Antibiotikaresistens utgör ett av de största hoten mot mänskligheten och livsmedelsäkerheten idag (WHO, 2020). Dagens antibiotikaförbrukning inom fiskindustrin bidrar till reservoar för resistenta bakterier som leder till mer allvarliga sjukdomar och ökad mortalitet hos människor världen över. Resistenta bakterier överförs från djur till människor bland annat via matkonsumtion och yrkesmässig exponering. Dessutom kan bakterier överföras via gödsel, resistensgener och rester av antibiotika. Simning och fiske predisponerar också för överföring av resistenta bakterier från

djur till mänskor. En del av problemet kan förebyggas genom att ta vara på avloppsvattnet och förhindra påverkan av omgivande miljö och fiskodlingar. Med en expansion av fiskindustrin globalt krävs en än mer ansvarsfull hantering av antibiotika vilket utgör en stor utmaning då etablerade alternativa behandlingsmetoder inte alltid existerar (The Fish Site, 2014). Det råder bristande förståelse och kunskap om spridning av antibiotikaresistens från djur till mänskor och miljö och den stora utmaningen är att tillhandahålla information och kännedom om problemet (Koch et al., 2017). Fokus ska ligga på att förebygga bakteriella sjukdomar och utveckla alternativa behandlingsmetoder samtidigt som antibiotikaförbrukning ska minimeras (Wamala et al., 2018).

### *Förebyggande*

Extrakt från 6 olika växter har studerats för antimikrobiell effekt mot *P. anguilliseptica* hos Nile tilapia i Thailand. Denna effekt varierar beroende på extrakt och art men rapporten konkluderar med att det finns indikation på att växter kan ha samma antibakteriella effekt mot fler bakterier. Man har redan sett effekt på bland annat *A. hydrofila*, *A. salmonicida* och *S. agalactiae* (Phumkhachorn and Rattanachaikunsopon, 2015). Andra alternativ som undersöks är *Spirulina* sp. som är ett kosttillskott i foder med antioxidantaktivitet. Det visade bakteriocid effekt på *P. fluorescens* och gav mindre grad av insjuknande (Mahmoud et al., 2018).

### *Vibrio vulnificus*

#### *Beskrivning*

*Vibrio vulnificus* är en ubikvitär, fakultativ anaerob, motil gramnegativ stavbakterie med oxidase-positiva och katalase-positiva egenskaper som växer bäst vid 37°C men kan växa i ett brett spektra av temperaturer (8-43°C). Kan också växa i ett brett spektra av salinitet (0,5-5%) men optimal salinitet är 2,5 % och ger därför främst sjukdom i saltvatten (Aspholm, 2018).

Infektion ger septikemi, exoftalmus, nekrotiska lesioner i huden, letargi och blödningar vid fenbasis (El-Sayed, 2006). Mörk pigmentering och ulcerationer är vanligt förekommande samt splenomegali (Chen et al., 2006). Utbrott sker sporadiskt och kan ge upp till 95 % mortalitet. Det har beskrivits 3 biotyper av *Vibrio vulnificus* varav biotyp 2 har visat sig virulent för Nile tilapia (Fouz et al., 2002). Biotyp 1 ger mild infektion hos Nile tilapia men det är också en opportunistisk humanpatogen som kan ge allvarlig sjukdom hos människor vid intag av underkokt havsmat, främst ostron (Aspholm, 2018) (Fouz et al., 2002). Bakterien är en mycket viktig patogen på grund av dess zoonotiska potential (Mahmud et al., 2010).



Figur 14: *V. vulnificus* (Aspholm, 2018).

### **Globalt perspektiv**

Det har rapporterats utbrott hos Nile tilapia i Japan och Taiwan. Det finns få rapporter på utbrott hos Nile tilapia på grund av att fokus ligger på att detektera bakterien hos människor då det ger mycket allvarlig sjukdom. Rapporten visar att bakterien i infekterad fisk som kom från havet i Bangladesh ackumulerats i fisken från fiskfarmen till marknaden där den konsumerades av människor (Mandal et al., 2012). Bakterien har också detekterats hos Nile tilapia i Egypten (Younes et al., 2016) men finns över hela världen i många olika akvatiska arter (Elmahdi et al., 2016).

## **Utmaningar**

### *Predisponerande faktorer*

Det har visat sig att utbrott har predisponerats av stora ändringar i salinitet samt parasitinfektioner (El-Sayed, 2006). Bakterien är opportunistisk och det förekommer friska smittbärare vilket är en stor utmaning för att få kontroll på sjukdomen. Höga nivåer av ammoniak och pH, hantering, snabba sänkningar i syremättnad, hög salinitet och temperatur och möjligheten att tillgodose sig järn är gynnsamma faktorer för *Vibrio vulnificus*. I en sådan miljö prolifererar bakterien snabbt (Younes et al., 2016).

### *Zoonotisk potential*

Nile tilapia tillsammans med många andra akvatiska arter utgör reservoar för *V. vulnificus* vilket gör att bakterien alltid finns i miljön och kan vid fördelaktiga förhållanden skapa sjukdom (Mandal et al., 2012). Bakterien är en viktig zoonos som ger sårinfektioner, septikemi och död hos människor. Fiskodlare, veterinärer och andra människor som hanterar fisk regelbundet löper stor risk för att bli smittad och i takt med att fiskindustrin expanderar blir detta ett större problem (Mahmud et al., 2010). Det är den vanligaste sjukdomen associerat med havsmat i USA då den står för 95 % av alla dödsfall orsakat av havsmat (Elmahdi et al., 2016).



Figur 15: Sårinfektion hos människa orsakat av *V. vulnificus* (Aspholm, 2018).

### *Resistens*

Bakterien visade sig vara sensitiv mot trimatoprim-sulfa, gentamicin och ciprofloxacin men det förekommer resistens mot céfalotin (Mandal et al., 2012). Dock har resistensen utvecklats till multiresistens mot bland annat ampicillin, penicillin, tetracyklin, streptomycin, trimetoprim och linkomycin och är nu ett allvarligt ökande problem som snabbt kräver nya strategier för förebyggning och behandling av sjukdomen. Bakteriofager och probiotika har föreslagits som strategier att kontrollera infektionen på men det krävs mer forskning (Elmahdi et al., 2016).

### *Vaccin*

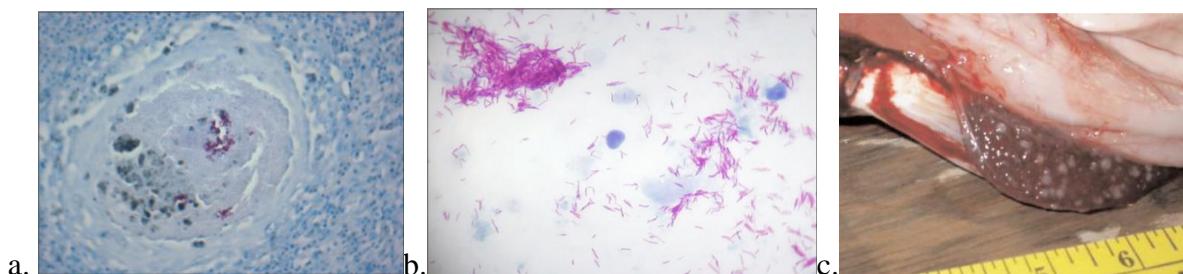
Vaccin mot *V. vulnificus* finns och är en viktig förebyggande strategi och skyddar människor från infektion (Fouz et al., 2002). Utmaningen med att utveckla vaccin till lägre värdерade fiskarter är att det måste vara kostnadseffektivt. Bäst effekt ger vaccin som administreras intraperitonealt men kan vara för kostsamt för fiskodlare då det innebär individbehandling som tar längre tid och är mer stressande för fisken vilket kan leda till högre mortalitet eller mottaglighet för andra patogener. Idag finns bivalent vaccin mot både *V. vulnificus* och *S. iniae* som endast kräver en injektion. Dessa multivalenta vaccin som innehåller flera antigen har därför en stor fördel då det reducerar stress, hantering, arbetstid och kostnad. Dock visade denna studie att monovalent vaccin för *V. vulnificus* och *S. iniae* gav högre antikroppstiter, trots att det bivalenta vaccinet också var effektivt. Mycket indikerar dessutom att multivalenta vaccin kan ha en synergistisk effekt (Shoemaker et al., 2012).

### *Mycobacterium marinum*

#### ***Beskrivning***

*Mycobacterium marinum* är en aerob, syrefast, pleomorf, grampositiv icke-spor stav (Buller, 2014) som växer sakta (Wu et al., 2012). Det är en ubikvitär opportunistisk patogen som ger

hög mortalitet hos Nile tilapia och har också potential att smitta människor via skadad hud och manifesterar sig som granulom i hud och djup vävnad som kan utveckla artrit och osteomyelit. De växer bäst vid 30°C både i saltvatten och färskvatten och har sitt naturliga habitat i vatten och biofilm (Hashish et al., 2018). Sjukdomen kallas ”mykobakterios” och ger kronisk sjukdom med granulom i lever, mjälte och njure, nekros och blödningar på fenor och gälar, exoftalmus, ulcerationer i hud och mun samt kroppsdeformiteter (El-Sayed, 2020). Det leder till onormal simning, letargi och inappetens. Runt granulomet sitter en tjock kapselvägg med epiteloida makrofager och perifera lymfocyter. Kapseln innehåller ett nekrotiskt center med syrefasta bakterier som ofta ses vid färgning (Lara-Flores et al., 2014). Ökad mortalitet och reproduktionsproblem i populationen är vanliga tecken på infektion (Francis-Floyd, 2011). Bakterien var tidigare vanlig i laxodlingar då fisken blev matad med slaktavfall från fisk, men idag ges istället vegetabiliskt industritillverkat foder och förekomsten av bakterien har därför nästan helt försvunnit hos lax (Francis-Floyd, 2011).



Figur 16: a. Granulom i mjälte hos *Micropodus salmoides* b. Färgade syrefasta stavbakterier i vävnad hos fisk (Francis-Floyd, 2011) c. Granulom i mjälte hos fisk (Jacobs et al., 2014).

### Globalt perspektiv

*M. marinum* har rapporterats över hela världen och infekterar > 200 akvatiska arter (Hashish et al., 2018). 2003-2006 sågs en snabbt ökande förekomst av utbrott i México (Lara-Flores et al., 2014).

## **Utmaningar**

### *Predisponerande faktorer*

*M. marinum* kan ge subkliniska infektioner med diffusa symptom svåra att upptäcka. Kontaminering av miljön, animaliskt foder, stress, dålig vattenkvalitet och hög täthet predisponerar för sjukdom (Lara-Flores et al., 2014). Bakterien trivs i varma temperaturer, låga syrenivåer, låg pH och rikligt med organiskt material. I princip alla fiskarter är mottagliga vilket gör att samkulturer löper större risk för smitta då bakterien smittar horisontalt mellan arter och utsöndrar bakterier från gastrointestinala trakten, hud och gälar. Regelbunden eliminering av död fisk hämmar smittspridning då fisken frisätter bakterier från interna organ ut till omgivningen post mortem. Vertikal transmission är en utmaning för stamfiskodlare och nedslaktning rekommenderas på grund av bristande behandlingsmetoder och dålig ekonomi. Avkomman får dålig tillväxt, kronisk mortalitet och utgör en smitrisk till övrig population och människor. I recirkuleringsanläggningar utgör *M. marinum* en stor utmaning då den är mycket svår att eliminera när den först etablerat sig och nedslaktning med desinfektion rekommenderas i dessa tillfällen (Francis-Floyd, 2011).

### *Zoonotisk potential*

Överföring av smitta är lite dokumenterat men antas ske via konsumtion av död fisk eller via kontakt med hud och gälar (Jacobs et al., 2004). Fiskodlare, veterinärer, slakteriarbetare och andra människor som hanterar fisk är predisponerade för smitta. Behandling är en stor utmaning då det är en sakta växande bakterie som under lång tid inte ger några symptom (Wu et al., 2012). Den ger djupa blödande hudsår och granulom på extremiteter som kan ta upp till 9 månader att utvecklas (Francis-Floyd, 2011).



Figur 17: Infektion hos människa med *M. marinum* (Wu et al., 2012).

#### Resistens

Bakterien är resistent mot många desinfektionsmedel vilket gör kontroll av sjukdomen utmanande. Den är dessutom multiresistens mot antibiotika (Hashish et al., 2018) så förebyggande åtgärder är därför det bästa sättet att kontrollera sjukdom på (Jacobs et al., 2004). Antibiotikabehandling av matfisk är en dyr och långvarig behandling som samtidigt påverkar den humana hälsan. Flera studier har gjorts på olika fiskarter med varierande mottaglighet och behandlingseffekt. Tidigare studier på *Seriola lalandi* visar att bakterien är mottaglig för rifampicin, streptomycin och erytromycin men ger inte full effekt. Vidare rekommenderas dyrkning och artbestämning av bakterien för att säkerställa att mest effektivt antibiotikum används (Chang and Whipples, 2015).

#### Förebyggande åtgärder

Det finns inga vaccin med tillfredsställande effekt på marknaden idag (Francis-Floyd, 2011). Utformning av vaccin har gjort på *Dicentrarchus labrax* men endast kortvarig immunitet har rapporterats. Fortsatt utveckling av effektiva vaccin är en extremt viktig kontrollstrategi (Hashish et al., 2018). Andra förebyggande åtgärder är god biosäkerhet som inte tillåter introduktion av agens i populationen där karantän av nya djur är en viktig del (Francis-Floyd, 2011). Goda förutsättningar för fisken med minimering av stress, bra vattenkvalitet, låg täthet och korrekt fodring är viktiga förebyggande åtgärder. Med bristande behandlingsmetoder är

det viktigt att eliminera den sjuka populationen och förebygga med UV-behandling på inkommende vatten och i anläggningen (Jacobs et al., 2004).

## Virus

Virus står för 23 % av sjukdomsutbrotten i världen hos Nile tilapia (Surachetpong et al., 2020). Nedan presenteras två av de virussjukdomar som har störst påverkan på fiskhälsa, ekonomi och socioekonomiska aspekter.

### TiLV - Tilapia lake virus

#### Beskrivning

TiLV är ett *Orthomyxovirus*-liknande virus inom familjen Amnoonviridae och är ett ssRNA virus med kappa (Eyngor et al., 2014). De har 10 segment som alla innehåller en öppen läsram (ORF) där segment 1 har en sekvens som är svagt homolog med influensa C virus PB1 enheten medan de andra segmenten inte visar homologi med några kända virus. Storleken på genomet är 10,3kb (Jansen et al., 2019). TiLV är ett mycket smittsamt virus och har haft en enorm påverkan på fisk och människor globalt. Nile tilapia är en viktig källa till mat, bra näring och inkomst för miljoner människor och viruset har resulterat i oerhördta ekonomiska förluster och skapar utmaningar i handeln av fisk mellan länder. Viruset har rapporterats smitta horisontalt genom hud eller via oral-fekal smitta men det har också påvisats i testiklar och ovarier samt hos 2 dagar gamla yngel vilket indikerar vertikal smitta (Surachetpong et al., 2020). Sjukdomen kallas bland annat för ”One-month mortality syndrome” på grund av att mortalitet främst uppstår inom 1 månad efter att yngel flyttats från kläckeriet till dammarna där de växer sig stora och kallas då storyngel. I denna period har mortalitet rapporterats upp till 90 % (Mushtaq et al., 2018). Dock kan sjukdom uppstå i alla åldrar trots att juvenil fisk är extra mottaglig (Barría et al., 2020). Viruset diagnostiseras med PCR och RT-PCR från RNA extraherat från lever, njure, hjärna och mjälte (Senapin et al., 2018).

Symptom har visat sig variera geografiskt. I Israel ger det främst letargi, erytem i huden och mörk pigmentering. I Ecuador ses exoftalmus, mörk pigmentering, svullen buk och bleka gälar. I Peru presenterar det sig som ulcerationer i huden och exoftalmus. Thailand har rapporterat om inappetens, letargi, fisken simmar på ytan, anemi, exoftalmus och erythem på huden. På sommaren i Egypten har blödning i huden, öppna sår, mörk pigmentering och fenröta varit primära symptom. Viruset kan också ge subkliniska infektioner (Jansen et al., 2019). Generellt får fisken hepatit, encefalit och ögoninflammation och sjukdomen leder till organsvikt med död som följd (Mushtaq et al., 2018).



Figur 18: A. Sjukdomsutbrott hos tilapia orsakar massdödighet B. Minskning av ögat orsakar blindhet C. Hudlesioner och ulcerationer (Eyngor et al., 2014).

TiLV är inte direkt en risk för den humana hälsan, ändå är den ett hot mot livsmedelsäkerhet och levnadsstandard för miljontals människor. OIE, NACA och FAO har utfärdat brådskande varningar om ett behov för ökad uppmärksamhet och fokus på sjukdomen (Surachetpong et al., 2020).

### Globalt perspektiv

2009 utbröt allvarlig sjukdom på flera ställen i Israel orsakade av TiLV. Detta var det första tillfället av TiLV som någonsin diagnostiseras. 2014 var första gången sjukdomen rapporterades (Eyngor et al., 2014). Efter utbrottet i Israel har man påvisat viruset över hela världen, bland annat i Peru, Egypten, Tanzania, Uganda, Kina, Indonesien, Sydamerika,

Ecuador, Colombia, Thailand, Indien, Malaysia, Filippinerna, USA, Bangladesh och México (Barría et al., 2020). Då viruset nyligen identifierats förväntas det ha större spridning än vad som hittills har rapporterats (Mushtaq et al., 2018). Dödligheten av viruset varierar från 10 % mortalitet till 90 % (Jansen et al., 2019).



Figur 19: Utbredelsen av TiLV i världen 2020 (Surachetpong et al., 2020).

## **Utmaningar**

### *Predisponerande faktorer*

TiLV är en av industrins största utmaningar per idag. Den är världsomfattande och utgör ett stort hot mot industrin på grund av att tilapia produktion förser miljontals människor med jobb, mat, infrastruktur och ekonomi. Predisponerande faktorer som hittills har identifierats är ålder där storyngel är mest utsatt, temperatur  $> 25^{\circ}\text{C}$ , stress och hög täthet (Mushtaq et al., 2018). Transport, väder, syremättnad och matningsregim har också visat sig vara viktiga faktorer för insjuknande. I Ecuador är större yngel mindre mottagliga för sjukdom under transport ut till dammarna. Otillräcklig eliminering av sjuk och död fisk ökar risken för utbrott. Koinfektioner med *Flavobacterium*, *Aeromonas*, *Streptokocker*, *Dactylogyrus* och *Trichodina* är vanligt förekommande (Jansen et al., 2019). Koinfektioner tenderar att ge högre mortalitet än infektion med enbart viruset (Surachetpong et al., 2020).

### *Handel*

Handel av fisk över hela världen antas ha stor inverkan på spridningen av viruset. Subklinisk infektion gör det svårt att säkra transport av frisk fisk nationellt och internationellt. Det är därför av högsta relevans att privata och kommersiella aktörer erhåller god kontroll i form av screening av sin fisk. Länder som ännu inte detekterat TiLV rekommenderas att ha kostnadseffektiva övervakningsprogram med riktlinjer för risker och hantering vid import. Då kapacitet för diagnostik av TiLV är begränsad utgör övervakning en stor utmaning. Samarbetsprogram mellan privat sektor och stat är nödvändigt för att begränsa virusets påverkan (Jansen et al., 2019).

### *Genetik*

Låg mortalitet har rapporterats från Egypten, Kina och Malaysia (Senapin et al., 2018). I Ecuador har det rapporterats 10-80 % variation i mortalitet nationellt och Thailand har varieritioner mellan 20-90%. Genetisk variation kan användas i avelsprogram då man selekterar ut TiLV-resistenta stammar för att få en mer motståndskraftig fisk (Surachetpong et al., 2020). Ett sådant arbete pågår just nu med målet att reducera dödlighet, öka resistens mot sjukdom och förbättra hälsan hos tilapia (Barría et al., 2020).

### *Vaccin*

På grund av att det råder begränsad kapacitet för diagnostisering av TiLV måste mer effektiva, sensitiva och specifika metoder utvecklas (Mushtaq et al., 2018). Per idag finns ingen behandling mot TiLV men det arbetas med att utveckla effektiva vaccin (Jansen et al., 2019). Fisk som överlevt sjukdom bildar immunitet mot viruset vilket indikerar att vaccin kan vara en viktig faktor i begränsning och kontroll (Eyngor et al., 2014). Vaccin måste vara kostnadseffektivt, lätt att administrera i stora populationer och enkelt att distribuera över hela världen (Jansen et al., 2019).

Många arter har visat sig vara resistent mot TiLV men *Oosphroemus goramy* har infekterats och *Barbomyrus schwanenfeldii* har påvisats med viruset. De kan därför fungera som ett reservoar för TiLV (Surachetpong et al., 2020). Mer kunskap om virusets olika genetiska varianter, överlevnad i miljön, andra mottagliga arter som kan utgöra reservoar för viruset och den reella utbredning geografiskt krävs (Jansen et al., 2019) (Mushtaq et al., 2018).

## **ISKNV – *Iridovirus (Megalocytivirus)***

### ***Beskrivning***

dsDNA kappvirus som tillhör familjen *Iridoviridae* och infekterar fisk både i färskvatten och saltvatten (Machimbiriike et al., 2019, Jitrakorn et al., 2020). *Iridoviridae* är uppdelat i 5 genus där *Megalocytivirus* är ett av dem. Infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) är ett av 7 megalocytivirus och ger systemisk fatal sjukdom hos ett brett spektra av fiskarter i både saltvatten och färskvatten. Letargi, bleka gälar, ascites, överflöd av intravaskulära megalocyter i speciellt gälar, njure, mjälte, lever och submucosa i tarm är vanliga symptom. Mikroskopiskt ses anisocytotiska megalocyter med basofila hypertrofiska cytoplasmatiska inklusioner vilket anses patognomiskt för sjukdomen (Subramaniam et al., 2016). Utbrott sker vid temperaturer  $> 20^{\circ}\text{C}$  (Wang et al., 2006, Jung-Schroers et al., 2016). Symptom som beskrivits i andra delar av världen är exoftalmus, anorexi, balanssvårigheter, blindhet, blödningar i hud och inre organ, mörk pigmenterad hud och ascites. Främst är det juvenil fisk (1-5 g) som drabbas av massmortalitet men stamfisk och vuxen fisk har också insjuknat. Mest dödlighet sker från att fisken genomgår könsförändring till att den överförts till dammar (Ramírez-Paredez et al., 2020).

## **Globalt perspektiv**

Virusutbrott hos Nile tilapia beskrevs första gången i USA 2012 efter ett stort utbrott med hög mortalitet (50-75%) hos yngel (Subramaniam et al., 2016). Utbrott har också rapporterats i Thailand 2015 (Pereira Figueiredo et al., 2020). Senare upptäcktes viruset i Canada hos fisk importerad från USA (Subramaniam et al., 2016). 2018 uppstod akut massdödlighet hos både vaccinerad och ovaccinerad tilapia i Ghana. Det spred sig till alla regioner i loppet av 2 månader (Ramírez-Paredes et al., 2020). 2020 kom första rapporterade tillfället i Brasilien (Pereira Figueiredo et al., 2020). 2014 var första gången viruset upptäcktes i Tyskland som visade sig komma från import av fisk från Colombia (Jung-Schroers et al., 2016). ISKNV har rapporterats i Japan, Australia och Nordamerika. Detta är inte på Nile tilapia men på andra akvatiska arter (Kurita and Nakajima, 2012).

## **Utmaningar**

### *Predisponerande faktorer*

Massmortaliteten ses från att könsförändring sker fram till förflyttning ut till dammar. Det indikerar att fisken är mer mottaglig under stressade perioder i livet och innebär att viruset antingen har reservoar i miljön eller finns i latenta bärare. Hög täthet i enheterna verkar inte vara en predisponerande faktor för sjukdom (Ramírez-Paredes et al., 2020). Vattentemperatur har stor betydelse för utbrott då man bara har sett sjukdom vid 20-32°C. Latent infekterad fisk kan därför vara friska smittbärare vid temperaturer < 20°C (Wang et al., 2006). Koinfektioner med bland annat *Streptococcus agalactiae*, *Aeromonas hydrophila* och *Edwardsiella tarda* är vanligt förekommande under utbrott med ISKNV. Därmed är kontroll av bakteriella patogener av betydelse för massmortaliteten (Pereira Figueiredo et al., 2020).

## **Handel**

Handel med fisk internationellt anses vara orsak till spridning av ISKNV, därför krävs kontroll av förflyttning av levande fisk och utrustning. Virusets spridning geografiskt är den största utmaningen och högre kapacitet till diagnostik är en avgörande faktor för att kontrollera sjukdomen (Ramírez-Paredez et al., 2020). Både horisontal och vertikal smitta förekommer och viruset kan vara latent i friska smittbärare. Detta utgör en stor utmaning i arbetet att få kontroll på sjukdomen och sätter höga krav på stamfiskproducenter, biosäkerhet, sensitiva tekniker som kan identifiera virus tidigt i sjukdomsförloppet och vid subkliniska tillfällen (Pereira Figueiredo et al., 2020) (Suebsing et al., 2016). Loop-mediated isothermal amplification (blue-LAMP assay) har varit framgångsrikt i att detektera subkliniska tillfällen, upptäcka vertikal transmission och tidiga stadie i sjukdomsutvecklingen (Suebsing et al., 2016). blue-LAMP assay har använts för att detektera virusöverföring från subkliniskt infekterad stamfisk till avkomma. Metoden har visat sig mer sensitiv än PCR och bekräftat vertikal transmission av ISKNV, vilket klassisk PCR inte klarat av att göra (Machimbirike et al., 2019).

### *Vaccin*

Det finns indikationer på att det bildas immunitet hos överlevande fisk vilket ger incitament att vaccin kan vara en viktig kontrollstrategi. Att låta juvenil fisk växa upp i biosäkra kläckerier med behandlat vatten fram till att de är redo att vaccineras anses som en viktig åtgärd (Ramírez-Paredez et al., 2020). Vaccin till tilapiaindustrin till skillnad från laxindustrin, är mer priskänsligt då det ska vara tillgängligt för alla små producenter på landsbygden över hela världen. Det sätter också andra krav till bevaring, hållbarhet och infrastruktur. Ett alternativ kan vara specifik patogenfri (SPF) tilapia från biosäkra kläckerier. En kombination av vaccin och SPF tilapia vore dock ideellt (Machimbirike et al., 2019).

### *Samkulturer*

ISKNV ger infektion hos många olika färskvattenarter och marina arter och kan smitta mellan arter (Pereira Figueiredo et al., 2020) (Jung-Schroers et al., 2016). Detta är speciellt viktigt i samkulturer av Nile tilapia och andra akvatiska arter. Samkulturer innehåller ibland krav till högre saliniteten än vad som är optimalt för Nile tilapia som är en färskvattenfisk. Nile tilapia tål högre salinitet på bekostnad av tillväxt och motståndskraft mot infektioner. Det är därför möjligt att friska smittbärare inte utvecklar sjukdom i optimal salinitet, men i samkulturer där saliniteten är högre, utvecklar sjukdom. Salinitet upp till 30 ppt förekommer vid samkulturer och rapporteras ge kraftigt reducerad överlevnad av Nile tilapia på grund av osmotisk stress. Det har rapporterats om Nile tilapia stammar som har en högre överlevnad i hög salinitet vilket ger incitament att upprätta avelsprogram som selekterar fisk som tolererar högre salinitet (Withyachumnarnkul et al., 2017). Dessutom möjliggör teknologin för en effektiv selektiv avel av fisk som är resistent mot ISKNV (Ramírez-Paredes et al., 2020).

## **Parasiter**

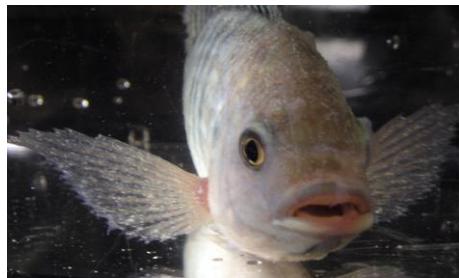
Under optimal temperatur är Nile tilapia mindre mottaglig för parasiter än andra färskvattenfiskar och det är yngel och juvenil fisk som är mest mottagliga (Amoako, 2006). Generellt är allvarlighetsgraden av parasitära sjukdomar beroende av miljö, fiskens hälsostatus, antalet parasiter på fisken, parasitens art, kön, storlek på fisken och eventuella samtidiga sjukdomar i populationen (El-Sayed, 2020). Hög täthet i dammarna leder till låga syrenivåer, ökade ammoniaknivåer och minskat vattenflöde på grund av en mer stressad fisk som konkurrerar om resurserna. Denna artikel beskriver att storleksmässigt mindre fisk är mer mottaglig för parasiter än större fisk (Amoako, 2006). En annan studie hävdar dock att korrelation mellan storlek på fisk och tidpunkt för infektion har undersökts för lite för att kunna dra en slutsats. De flesta studier som finns idag har gjorts på yngel och därför kan det uppfattas som om det främst är ung fisk som afficieras (Zago et al., 2014). Parasiter ger skada

på hud och gälar och skapar ingångsportar för bakterier, svamp och virus som kan ge sekundärinfektioner (Arguedas C et al., 2017). Fisk lever normalt sett i symbios med parasiter men vid obalans mellan miljö och motståndskraft kan utbrott ses med hög mortalitet och stora ekonomiska förluster (Pantoja Mf et al., 2012). Parasiter står för 19 % av sjukdomsutbrotten i akvakultur (Surachetpong et al., 2020).

### ***Ichthyophthirius multifiliis***

#### **Beskrivning**

*Ichthyophthirius multifiliis* är en cilieförsedd protozo som förekommer både i salt- och färskvatten och ger infektion främst på vår och sommar då den trivs bäst vid 25-26°C samt pH > 5 och syrekoncentration > 0,8 ml/l (Pillay, 2005). Det är en av de mest skadliga parasitär sjukdomar hos Nile tilapia och orsakar hög mortalitet (Xu et al., 2008). Den förekommer främst på hud och gäl och ger sår och hypersekretion av slem (Zago et al., 2014). Den fäster sig under huden och bildar gelatinösa cystor och multiplicerar sig med binär fission där en protozo kan bli till 2000 nya. Efter multipliceringen löser parasiten upp den gelatinösa cystan, släpper taget från fisken och blir fri i vattnet. Parasiten är beroende av hög täthet då den måste hitta en ny värd inom 2-3 dagar för att inte dö. Symptom är rastlöshet, dålig reaktion på stimuli, inappetens, simmar upp till ytan och sväljer luft, sår på cornea och blindhet. Störst problem rapporteras hos ung fisk (Pillay, 2005). Sjukdomen kallas "White spot" på grund av tuberkler som täcker hela kroppen och ser ut som vita prickar (El-Sayed, 2006).



Figur 20: Nile tilapia infekterad med *Ichthyophthirius multifiliis* som gett "White spot" (Xu & Klesius, 2020).

### **Globalt perspektiv**

*I. multifiliis* bär ett stort ekonomiskt ansvar för signifikanta förluster i flera Nile tilapia produktioner i Brasilien (Pantoja Mf et al., 2012) (Zago et al., 2014). Infektion är också vanligt förekommande och en stor utmaning i Asien och USA (El-Sayed, 2020).

### **Utmänningar**

#### *Predisponerande faktorer*

Stadiet då parasiten inte är infektiös är den mycket känslig mot miljöfaktorer vilket används förebyggande. Eliminering av friska smittbärare, reducering av salinitet och desinfektion av miljö och verktyg är essentiellt för att reducera möjligheten för etablering av parasiten. Hög täthet är en förutsättning för att parasiten ska kunna hitta nya värdar och föröka sig på då parasiten inte överlever länge utan en värd (Pillay, 2005). Slemlager och epidermis är en viktig barriär mot infektioner och vid parasitangrepp skadas barriären vilket ökar risken för sekundära infektioner av andra patogener (Xu et al., 2014). Dessutom ger skador också hypersekretion av slem över gälarna vilket påverkar respirationsförmågan negativt (Zago et al., 2014). *I. multifiliis* kontrolleras främst genom kemikalier men efter att parasiten har etablerat sig i populationen är det inte effektivt längre. Dessutom är kemikaliebehandling dyrt

och har negativ påverkan på fiskens och konsumentens hälsa samt utgör miljömässiga problem (Xu et al., 2008).

### *Immunisering*

2008 gjordes ett smittförsök där Nile tilapia smittades med levande theronts (infektiva stadiet av parasiten) respektive inaktiverade trophonts (vuxet, motilt stadie) via nedsänkning i bad och intraperitoneal injektion (IP). Högst överlevnad gav exponering av levande theronts via bad och IP injektion med 100 % överlevnad. Det visade mycket goda resultat både efter 21 dagar och 6 månader efter immunisering. Inaktiverade trophonts via IP injektion gav 76,7 % överlevnad och nedsänkning i bad gav 33,3 % överlevnad (Xu et al., 2008).

### *Trichodina sp.*

#### *Beskrivning*

Cilieförsedd protozo som ger infektion främst på vinterhalvåret då den trivs bäst vid 5-10°C och dör vid temperaturer > 20°C. Ger allvarligare infektion hos yngre fisk och producerar cystor i huden där det sker binär delning (Pillay, 2005). Parasiten ger lesioner på hud och gälar och allvarlighetsgraden ökar med ökat antal parasiter (Amoako, 2006). Hudens täcks av ett tunt lager vitt slem där mängden och distributionen av slemmet ökar med graden av skada (Pillay, 2005). Respirationsproblem, inappetens och viktnedgång är vanliga symptom. Trichodina arter är en av de största sjukdomarna i akvakultur i världen och påverkar produktionen av Nile tilapia i hög grad. De vanligaste arterna är *Trichodina centrostrigeata*, *Trichodina compacta*, *Trichodina magna* och *Paratrichodina africana*. Badbehandling med formaldehyd och natriumklorid har visat sig ha 100 % effekt. Det observerades inga beteendeförändringar eller dödlighet under behandlingen (Valladão et al., 2016). I Costa Rica sågs högre prevalens av *Trichodina* spp. på gälar och hud i torrperioden (82 %) som är den

varma årstiden jämfört med 53 % prevalens i regnperioden. Däremot har det rapporterats högre prevalens av parasiten under vinterhalvåret i Saudiarabien (Arguedas C et al., 2017).

### ***Globalt perspektiv***

Parasiten är en stor utmaning för producenter i Filippinerna, Vietnam och Nigeria (El-Sayed, 2020). Brasilien har också problem med parasiten (Valladão et al., 2016). *Trichodina* spp. är den vanligaste förekommande parasiten i Lake Victoria hos Nile tilapia (Akoll et al., 2012). *Paratrichodina africana* är mycket vanligt i Afrika (El-Sayed, 2020).

### ***Utmänningar***

#### ***Predisponerande faktorer***

Stress, hög tätet och dålig vattenkvalitet predisponerar för sjukdom. Infektion leder till immunsupprimerad fisk som äter mindre och blir därför mer mottaglig för sekundära infektioner av opportunistiska bakterier (Amoako, 2006). Stora mängder organiskt material gynnar ektoparasitens tillväxt och överlevnad. Tungt infekterad fisk utsöndrar stora mängder kväveföreningar som är fördelaktigt för parasitens tillväxt och överlevnad (Zago et al., 2014). Infektion är en utmaning på vinterhalvåret och för att förebygga utbrott i vinterdammarna ska fisken badas i 5 % natriumklorid innan den överförs. Dammarna borde dessutom torkas och desinficeras efter användning. Som nämnts är parasiten ett stort hot mot ung fisk men vuxen Nile tilapia är friska bärare och fungerar som reservoar för parasiten (Pillay, 2005). Under könsförändringen är det högre prevalens av parasiten vilket kan bero på begränsat vattenutbyte och hög tätet i dammarna i denna period (Arguedas C et al., 2017). Som tidigare nämnts kan Nile tilapia vara mer mottaglig för ektoparasiter i kallare temperaturer

och en anledning till det är att fiskens aptit reduceras och tillväxten hämmas vilket försvagar immunförsvaret (Zago et al., 2014).

### *Biosäkerhet*

Dåliga förhållanden i kläckerier är perfekta miljöer för parasiten att växa på och yngel blir immunsupprimerad från födseln vilket ökar mottagligheten för patogener. Ektoparasiter fungerar också som mekaniska vektorer för bakterier och virus och gör fisken mer disponerad för sjukdom. Från kläckerier transporteras infekterad fisk ut till dammar där de eventuellt blandas med annan fisk och parasiten får då fler värdar att fästa på. Biosäkra metoder för att förhindra agens att komma in i anläggningar är av högsta betydelse. Genom att dränera det använda vattnet, utöva allt-in-allt-ut principen samt torka dammarna mellan varje population kan hantering av parasiter helt eller delvis kontrolleras. Dränering av allt vatten mellan varje population har beskrivits utmanande på anläggningar där det råder knappa vattenresurser (Amoako, 2006).

### *Dactylogyrus sp.*

#### **Beskrivning**

Monogenea, även kallad haptormask, är en ektoparasit som förekommer främst på gälar, hud och fenor där de lever av fiskens epitelceller, blod och slem. De har direkt livscykel och fäster till värdens med hjälp av haptorn och producerar ägg (Robertson, 2017). De lever i färskvatten där äggen utsöndras i miljön (Amoako, 2006) och när de kläcks blir de fritt simmande larver tills de hittar en ny värd att fästa till med haptorn som består av 2 krokar (Klinger and Floyd, 2002). Parasiten kan reproducera sig i ett stort intervall av temperaturer men trivs bäst på vinterhalvåret och ger inappetens, hud lesioner och ökad gälfrekvens (Amoako, 2006). Dessutom ses blödningar, fenröta och ökad slemproduktion. Förekomst av infektion påverkas

av art, kön, storlek och miljömässiga faktorer. Parasiterna kan användas som en bioindikator då den ofta trivs bäst i dålig vattenkvalitet med kemisk förorening (El-Sayed, 2020). Det har effektivt behandlats med formalinbad i 30-40 min (El-Sayed, 2006). Varma vattentemperaturer genererar snabb tillväxt och mognad av parasiten på bara några dagar medan kallare temperaturer kan ge full mognad först efter 6 månader (Reed et al., 2009). I Costa Rica har det detekterats signifikant högre prevalens av parasiten hos yngel och larver i regnperioden (45 %) då temperaturerna är lägre jämfört med i torrperioden (5 %) som kännetecknas av höga temperaturer (Arguedas C et al., 2017).

### ***Globalt perspektiv***

Det har rapporterats förekomst av parasiten i Vietnam, Kamerun och Saudiarabien (El-Sayed, 2020). Parasiten är även vanligt förekommande i Costa Rica (Arguedas C et al., 2017).

### ***Utmötande***

#### ***Predisponerande faktorer***

Infektion förknippas ofta med dålig hantering, lite näring i fodret, hög täthet, stress och dålig vattenkvalitet. Faktorerna reducerar fiskens motståndskraft och immunsystem och ger dessutom ökad frisättning av kortisol i blodet vilket ökar reproducerbarheten hos parasiten. En del fisk klarar att hämma reproduktionen av parasiter så att det inte ger dödlig utgång för fisken. Dock är dessa fiskar farliga då de fungerar som reservoar för andra fiskar som inte klarar att hämma reproduktionen (Reed et al., 2009). Krokharna som parasiten fäster med kan skada hud, gälar och slemhinnor vilket predisponerar för sekundära infektioner (Amoako, 2006). Skadorna ger hypersekretion av slem och leder till respirationsproblem om det sker över gälarna (Pillay, 2005).

### *Behandlingsutmaningar*

Äggen kan vara mycket motståndskraftiga mot kemisk behandling och upprepad behandling är därför ofta nödvändigt. Formalin har använts som behandlingsmetod men sjuk fisk är känslig mot formalin (Klinger and Floyd, 2002). Bästa sättet att hantera monogenea på är att ha biosäkra metoder som förebygger introduktion av parasiten där karantän är en viktig faktor. Dock är det inte alla fiskodlare som har resurser att genomföra det. Andra alternativ till karantän är att doppa fisken i saltvatten innan den introduceras till resten av populationen men det kan också vara utmanande då klippiga ägg är mycket motståndskraftiga mot salt och ramlar inte av fisken. Praziquantel har använts för att behandla infektion, dock har ofullständig effekt dokumenterats på grund av att parasiten skyddats av fiskens slemhinnelager, upprepad behandling kan därför bli nödvändigt. Dessutom löser sig praziquantel inte i vatten men bara i alkohol och är inte läkemedlet löst på rätt sätt kan det resultera i stora skador på gälar och orsaka död hos fisken. Hydrogenperoxid är ett effektivt preparat men en del fisk tål det inte. Utmaningen med formalinbehandling är att det krävs enormt mycket ventilering av vattnet för att upprätthålla adekvata syrenivåer (Reed et al., 2009).

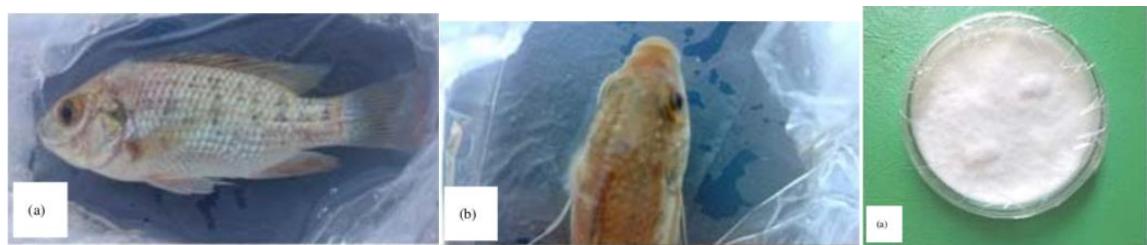
## **Svampliknande infektioner**

### **Saprolegniasis**

#### *Beskrivning*

*Saprolegnia* spp. är en oomycota och skapar enorma ekonomiska förluster i fiskindustrin (Zahran and Risha, 2013). Det klassificeras inte som äkta svamp utan är en äggsporsvamp som sprider sig med hjälp av zoosporer. De etablerar sig i biofilm, rörsystem och på ytor i kar

och gör att fisken ständigt exponeras för sporer men sjukdom uppstår först om fisken är immunsupprimerad (Fiskehelserapporten, 2019). Saprolegnios anses därför vara en sekundär patogen då fiskens immunförsvar måste vara nedsatt för att infektion ska uppstå. Det startar lokalt och presenterar sig som ett vitt bomullsbällegg på hud, gälar, ögon, fenor och muskulatur men kan senare utveckla blödande sår som leder till systemisk sjukdom och massmortalitet (Eldeen et al., 2017). *S. parasitica* och *S. diclina* är två av de vanligaste arterna (Hassan and Mahmoud, 2013). Den är ubikvitär i färskvatten och växer bra vid 0-25°C men trivs bäst < 15 °C, därmed är utbrott vanligast på vintern. Fisken simmar nära vattenytan och vilar på botten (El-Sayed, 2020). Mortalitet orsakas av brist på osmoreglering som leder till elektrolytstörningar (Zahran et al., 2017). Både fisk och ägg drabbas av *Saprolegnia* spp. (Eldeen et al., 2017).



Figur 21: a. Bomullsbällegg på hud och huvud b. Bomullsbällegg på huden och exoftalmus c. Agar med *Saprolegnia* hyfer (Eldeen et al., 2017).

### **Globalt perspektiv**

*Saprolegnia* spp. finns över hela världen i alla färskvatten (Fiskehelserapporten, 2019). Det anses som den viktigaste orsaken till massmortalitet på vinterhalvåret i Egypten (Eldeen et al., 2017). Europa och Nordamerika har stora problem med *Saprolegnia* spp. (Zahran et al., 2017). Det är en av de viktigaste sjukdomarna i Egypten och orsakar hög dödlighet och enorma ekonomiska förluster. De har nyligen rapporterat om 2 nyupptäckta stammar av *S. parasitica* (ManS22 och ManS33) som associerats med hög dödlighet (Hassan and Mahmoud, 2013). Kenya och Nigeria har haft stora problem med infektion på ägg (El-Sayed, 2020).

## **Utmaningar**

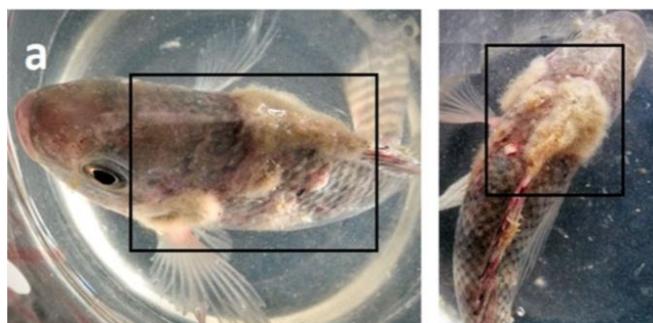
### *Predisponerande faktorer*

Det krävs ofta att fisken är immunsupprimerad av primär infektion, hantering, temperaturförändringar, dålig hygien, hierarki eller transport för att *Saprolegnia* spp. ska kunna etablera infektion (Zahran et al., 2017). Stress, hud lesioner, ulcerationer och dålig vattenkvalitet predisponerar för sjukdom. När *Saprolegnia* spp. har etablerats i anläggningen är den mycket svår att eliminera (Eldeen et al., 2017). Snabb sänkning av vattentemperatur ger reducerat slemhinneskkydd hos fisken samtidigt som stora mängder zoosporer produceras och börjar simma fritt och fäster sig till hud och muskulatur (Eldeen et al., 2017). Studier visar att ökad mängd zoosporer förknippas med ökad mortalitet (Hassan and Mahmoud, 2013).

### *Behandlingsutmaningar*

Behandling med malakitgrönt, kaliumpermanganat och formalin har i många år gett bra effekt. Idag klassas det som karcinogent, teratogent och mutagent för människor samt har miljömässiga och fiskhälsomässiga utmaningar. Malakitgrönt är därför numera förbjudet över hela världen (Ali et al., 2019). *Saprolegnia* spp. växer bäst vid pH 7 och är oförmögen att växa vid pH 3,5 vilket möjliggör behandling med syra (Mahboub and shaheen, 2021). Humussyra är ett ekonomiskt, miljömässigt och välfärdsmässigt alternativ för behandling av bland annat *Saprolegnia* spp. Dock gav det endast 80 % överlevnad. Hydrogenperoxid och natriumklorid gav 60 %, respektive 50 % överlevnad medan natriumklorid var mer ekonomiskt än hydrogenperoxid. Det observerades inga förändringar i fiskens beteende eller blodparametrar efter behandling och det påverkar heller inte frisk fisk. Det mest effektiva sättet att förhindra och behandla *Saprolegnia* spp. på är en kombination av stabil

vattenkvalitet och temperatur tillsammans med humussyra som förstaval (Eldeen et al., 2017). Borsyra har haft dokumenterad förebyggande effekt mot *Saprolegnia* spp. och i tillräckligt höga doser ges 100 % effekt samtidigt som det inte observerats toxicitet på Nile tilapia. Trots flera nya behandlingsalternativ kan inget jämföras med effekten av malakitgrönt och därför blir detta ett ökande problem (Ali et al., 2019). Fiskindustrin är i akut behov av nya behandlingsmetoder mot *Saprolegnia*. spp. (Eldeen et al., 2017).



Figur 22: Tilapia experimentellt smittad med *S. parasitica* med symptom (Ali, et al., 2019).

## **Genetikk**

En økende verdensbefolking gir økende behov for mat og mye av den globale befolkningsøkningen kommer i områder som tradisjonelt spiser mye fisk. Dermed øker behovet for økt produksjon av fisk i akvakultur, ikke minst siden mengden spiselig fisk som kan høstes fra verdenshavene og fra naturlige ferskvannskilder faller. Økningen i produksjon av tilapia, som er en stor oppdrettsart som nevnt ovenfor, vil betinge at man får bedre sykdomskontroll og reduserer tap som skyldes infeksjoner. Vi må ha mer vekt på avl, bedre stamfisk, bedre reproduksjonsevne, redusere produksjonsrelatert stress, bedre vannkvalitet osv. Ved siden av klassiske avlsmetoder vil bioteknologi med stor sannsynlighet ha betydning for å øke produksjonen i fremtiden (El-Sayed, 2020). Disse metodene har potensiale, men det knyttes også mange utfordringer til moderne metoder som vi kommer inn på senere i dette avsnittet.

## **Seleksjonsavl**

I følge Ponzoni og medarbeidere (Ponzoni et al., 2007) er en av de enkleste og billigste måtene å øke produksjonen på innen akvakultur, å forbedre det genetiske materialet, dvs. avlsmaterialet. For tilapia har det vært vanlig å bruke seleksjonsavl, slik som det har vært vanlig å gjøre innenfor produksjonen av andre matproduserende dyr generelt (Gjøen, 2004).

Seleksjonsavl har flere potensielle fordeler i form av at det er en metode som gjør at man stadig kan bedre det genetiske materialet. Egenskapene nedarves til neste generasjon, og disse kan igjen være utgangspunktet for millioner av nye individer (Ansah et al., 2014). Seleksjon innen tilapia-avl, har hatt fokus på vekt/tilvekst hos fisken og alder ved slakt. For å oppnå en forbedring (bedre vekst/kortere framføringstid) har man sett på hvor mye fisken veier og hvor

mye den går opp i vekt per døgn, samtidig som andre egenskaper også har blitt vektlagt (El-Sayed, 2020).

I dag finnes det flere seleksjonsprogram på tilapia, hvor noen av disse også gjør nytte av andre genetiske teknikker i tillegg. Disse vil vi komme inn på senere i teksten.

### **Tidlig kjønnsmodning**

En av de største utfordringene og begrensningene i produksjon av tilapia er tidlig kjønnsmodning, da dette medfører nedsatt- og varierende vekst, noe som igjen gjør det vanskelig å produsere et uniformt produkt, og dette har i tillegg negativ økonomisk effekt (Lozano, 2011, Chen et al., 2018). Tidlige produksjonsmetoder var basert på en blanding av hunn- og hannkjønn i samme dam (El-Sayed, 2020). Hos tilapia, som hos mange andre dyrearter, ser vi det som kalles seksuell dimorfisme. Det vil si at de to kjønnene kan ha varierende egenskaper (Ponzoni et al., 2011). Hos Nile tilapia, ser vi at kjønnene varierer i vekstrate og størrelse, hvor hannen vokser seg både større, og har en raskere vekstrate enn hunnen. Dermed vil det å produsere avkom hvor populasjonen er “all-male” (det vil si kun hannkjønn), være svært viktig i produksjonen av tilapia (Chen et al., 2018). Andre fordeler ved å produsere populasjoner med kun ett kjønn er blant annet at det er med på å hindre hindrer en eventuell overproduksjon, at man får et mer uniformt produkt og redusert aggressivitet (El-Sayed, 2020).

En annen metode for å motvirke effekten av tidlig kjønnsmodning er å bruke arter som vokser spesielt raskt, og så slakte disse før de blir kjønnsmodne. Denne fisken vil imidlertid ha en mindre størrelse enn den fisken som vanligvis er på markedet, og vil konkurransemessig kunne være en utfordring (Lozano, 2011).

Det kan også være andre fordeler ved hvert av kjønnene som ikke kun går på vekstrate og kjønnsandel. Andre egenskaper som for eksempel filet-egenskaper, økt toleranse for varierende miljøfaktorer, mindre størrelsesvariasjon, bedre fôrutnyttelse, kuldetoleranse, forbedrede reproduksjonsegenskaper etc. Dermed kan det også være av interesse å produsere "all-female" populasjoner (altså populasjoner med kun hunnkjønn) (El-Sayed, 2020). Andre egenskaper som det også kan være viktig å fokusere på, i tillegg til kjønnsandel hos avkom og vekstrate, vil bli diskutert senere.

Det finnes mange ulike teknikker for å produsere storyngel som er "all-male". Blant annet ved å skille kjønn for hånd, hormonbehandling, befrukte innenfor samme art for å få dannet hybrider, transgenese og triploiditet (El-Sayed, 2020), samt kromosommanipulasjoner (androgenese og gynogenese) og hos Nile tilapia kan man lage såkalte "superhannkjønn" ved hjelp av GMT (genetic male tilapia) (Lozano, 2011).

### **Manuell kjønnsinndeling**

Prosessen med å skille kjønn for hånd, ved å observere genitalia, er noe som krever svært møy sommelig arbeid, og krever mye tid og at de som utfører det har kunnskapen som er nødvendig. Å skille mellom kjønnene kan være vanskelig, og er ofte mer utfordrende ved de minste størrelsene (El-Sayed, 2020). Dette er også en prosess som vil også medføre stress for fisken (Beardmore et al., 2001).

## **Hormonbehandling**

Den metoden som er mest brukt for å oppnå populasjoner med ett kjønn, er hormonbehandling av fisken. Man prøver da å gjøre en reversering av kjønn hos yngel ved bruk av testosteron som oftest blir gitt oralt. Hormonene (metyltestosteron) tilsettes i føret til fisken. Hormonene gis helst allerede ved første føring, og imellom 21 til 28 dager totalt (El-Sayed, 2020). Utfordringer og bekymringer rundt dette, er med tanke på at dette gir dårligere vannkvalitet, og det er også et økende fokus på eventuelle rester av hormoner når produktet når forbrukeren. En frykt er også at det kan påvirke artsmangfoldet (Chen et al., 2018). Dessuten har denne metoden vist seg å ikke fungere 100% (Chen et al., 2018).

## **Genetiske metoder**

Mer egnede metoder for å produsere “all-male”- populasjoner, det vil si populasjoner med bare hanner, kan skje ved hjelp av ulike genetiske metoder. Disse metodene er markør-assistert seleksjon (MAS), krysningsavl/hybridisering og genetisk modifikasjon.

## **Marker-assisted selection (MAS)**

Markør-assistert seleksjon hos tilapia, går ut på å bruke genetiske markører ved seleksjonen. Denne metoden regnes for å gi en mer effektiv seleksjon enn mange av de mer tradisjonelle metodene som blant annet seleksjon på individnivå, familie-seleksjon, seleksjon innenfor familien, og søskenseleksjon. Ved MAS-metoden vil man altså kunne drive seleksjon basert på at det finnes markører for bestemte egenskaper. Ved å bruke en eller flere markører, kan man finne fiskens genotype, og således også si noe om hvilke egenskaper man regner med at dyret har, noe som da brukes ved avlen og produksjon av et avkom (Chen et al., 2018).

Markører kan man lage på flere ulike måter, blant annet ved å bruke SNP (single nucleotide polymorphisms), RFLP (restriction fragment length polymorphism), AFLP (amplified fragment length polymorphism), SSR (simple sequence repeat), RAPD (random amplified polymorphic DNA) og SSCP (single strand conformation polymorphism). På akvakulturdyr kan det være nødvendig å gjøre markørene om til SCAR markører (sequence-characterized amplified region), da disse er mer spesifikke, lettere å repeter og mer anvendelige (Chen et al., 2018).

En av de egenskapene det er vanlig å legge vekt på ved MAS hos tilapia, vil på grunn av ulikhetene i kjønnenes egenskaper som kjønnsmodning og vekst, være evnen individene har til å produsere avkom som kun er hannkjønn (Chen et al., 2018). I en studie publisert i 2014 av Sun og medarbeidere (Sun et al., 2014) så man på kjønns-linkedede markører og bruk av MAS ved seleksjon. I studien fant de 5 markører som var koplet til kjønn hos Nile tilapia. Markørene i denne studien var imidlertid ikke 100% spesifikke for kjønn (Sun et al., 2014). Mulighetene for kjønnsbestemmelse er også knyttet til hvilken tilapia-art det er snakk om da det er forskjell mellom artene. Her bør det bli gjort ytterligere studier hvor man får en bedre oversikt over QTL'ene og videre gjøre en posisjonell kloning ifølge Chen og medarbeidere (Chen et al., 2018), slik at man kan lage markører som faktisk er linket til egenskapen.

## **YY supermale**

Man lager såkalte YY supermales ved å hormonbehandle XY-hanner, slik at de blir hunner. Disse vil så krysses med normale XY-hanner (El-Sayed, 2020). Den andelen som blir YY supermale vil kun produsere “all-male” avkom i neste generasjon (Beardmore et al., 2001). Avkommet fra disse hannene kalles GMT (genetically male tilapia) og vil være normale hanner (Khan et al., 2014).

Utfordringer med denne metoden er at resultatet vil avhenge av hvilke stammer man bruker. Den vil også være tidskrevende da man må gjennom tre generasjoner og man må gjøre tester av avkommet (Lozano, 2011). For å identifisere YY supermales må man gjøre en såkalt “progeny-testing”, dvs. en testing av avkommet. Det som da skjer er at man parer det som er potensielle YY supermales med XX-hunner, for å se hvor stor andel av avkommet som blir hannkjønn (Chen et al., 2018). Dette er en teknikk som krever svært gode laboratoriefasiliteter, og det vil avhenge av et godt samarbeid mellom klekkeriet og laboratoriet (Lozano, 2011). Selv om dette er en teknikk hvor man forventer at alt av avkommet skal være hanner, er det ikke nødvendigvis slik, og i praksis ser man hos noen stammer av Nil-tilapia, en hannkjønnsandel på 95,6% (Chen et al., 2018).

Når man skal bruke avlsprogram for å produsere YY supermale, ville det å bruke markører som er linket til kjønn, gjøre utvelgelsen lettere, og at man lettere finner de som faktisk er YY supermales, og at man deretter kan produsere GMT ved å krysse disse YY supermales, med normale XX-hunner (Chen et al., 2018).

## **Krysningssavl/hybridisering**

Ved “cross-breeding” eller krysningssavl, er formålet å blande foreldre fra ulike arter, eller ulike varianter innenfor samme art, med ulike egenskaper, slik at man kan få et avkom som har de ønskede egenskaper man er ute etter (Chen et al., 2018). Ved å bruke hybridisering kan man oppnå det som kalles for heterosis. Det vil si at man oppnår et avkom som har en forbedret egenskap enn det foreldrene har på grunn av miksen av genmateriale (Stenseth, 2009). Hybridisering er en viktig del av krysningssavlen, og generelt en viktig del av akvakultur, hvor man ønsker å masseprodusere fisk med fordelaktige egenskaper (Chen et al.,

2018). Ved hybridisering parer man ulike arter eller underarter med hverandre (Heiberg, 2018).

Ved å pare ulike arter med hverandre kan man oppnå ulik grad av kjønnsfordeling hos deres avkom. Dette er en teknikk som har blitt brukt mye innenfor avl av tilapia for å oppnå avkom av kun ett kjønn. Dette er fordelaktig med tanke på kjønnsmodning, vekstrate og størrelse. For eksempel har det vært vanlig å pare Nile tilapia hunner med blå-tilapia hanner, og fått produsert avkom hvor hele populasjonen var hannkjønn, hvor avkommet har vist en forøket vekstrate (Chen et al., 2018).

I dag finnes det fem ulike hybridkombinasjoner hvor målet er å oppnå “all-male” populasjoner. Ulike hybrider kan gi ulik andel hannkjønn (El-Sayed, 2020). Man bruker i dag hunn Nile tilapia, som pares med *Oreochromis uralepsis hornorum*, *O. macchrochir* eller *O. aureus* (Lozano, 2011).

En utfordring er imidlertid at disse hybridene ikke alltid oppnår populasjoner hvor alle er hannkjønn (Lozano, 2011). I populasjoner der ikke alle i populasjonen er hanner, kan dette skyldes at stamfisken ikke har blitt inndelt etter korrekt art eller kjønn, eller at stamfisken faktisk ikke er den arten man tror, men en hybrid. Det å holde rene stamfiskpopulasjoner over tid kan være en utfordring. Det kan komme inn fisk som har liknende utseende eller det kan skje feil under inndelingen etter kjønn og art (El-Sayed, 2020).

Tilapia er en art hvor det å lage hybrider har vært mye brukt i akvakultur. Resultatet av hybridisering mellom arter som er i nær slekt, er imidlertid noe som påvirkes av en rekke ulike faktorer. Det vil avhenge av antallet fisk som er tilgjengelige hos de to artene som skal

brukes til krysningen. Det vil være avhengig av om det er en ekstern fertilisering, og om det er konkurranse om gyteplasser, og om kvaliteten på de gyteplassene og også andre faktorer (El-Sayed, 2020).

Tidlig kjønnsmodning og vekst er som nevnt noe som henger sammen. Man ønsker å unngå tidlig kjønnsmodning, for å unngå at veksten stopper opp. I 1999 fant Longalong og medarbeidere (Longalong et al., 1999) at det var en mulig negativ korrelasjon mellom vekstrate og tidlig kjønnsmodning. En utfordring kan da være at ettersom det selekteres for fisk har høy slaktevekt, vil man samtidig også selektere for fisk som har en tidligere kjønnsmodning (Lozano, 2011).

### ***Genetisk modifikasjon***

Ved genetisk modifikasjon brukes teknikker for å endre det genetiske materialet, og videre å kunne endre dyrrets fenotype. Hos tilapia vil egenskaper som i produksjonen vil vektlegges være fiskens vekstrate og kjønnsfordeling hos avkommet. En fordel med metodene vil også være at man kan endre spesifikke gener, uten å påvirke andre samtidig, slik som ved krysningsavl. Det kan også være andre egenskaper som man ønsker å avle på; det kan være å øke mengde fiskefilet, fargeegenskaper på kjøttet, økt resistens mot sykdommer, kuldetoleranse etc. Herunder finnes en rekke ulike metoder og teknikker for å oppnå dette, blant annet transgen-teknologi og metoder for redigering av genomet (Chen et al., 2018).

### **Transgen teknologi**

Transgen teknologi er noe som brukes innenfor produksjon av både planter og dyr. I akvakulturen har dette ikke enda blitt tatt i bruk i en slik grad som det har innenfor enkelte

andre dyr og planter. Det har imidlertid skjedd en del innenfor dette forskningsområdet hos tilapia i løpet av de siste årene (El-Sayed, 2020).

Ved transgen teknologi introduseres genetisk materiale i et dyr som stammer fra dyret selv, blir modifisert og satt inn i dyret, eller hvor det nye genetiske materialet ikke stammer fra dyret, og kommer fra en annen stamme eller art. På denne måten ønsker man å oppnå nye eller forbedrede egenskaper hos det individet hvor man introduserte det nye eller modifiserte genetiske materialet (Malt, 2018). Dersom dyret tar opp det nye materialet i sitt genom, og uttrykker dette, vil dyret få en ny genotype og eventuelt fenotype (El-Sayed, 2020). På denne måten kan man produsere fisk med bestemte ønskelige egenskaper på kortere tid, og det kan være lettere å forutse de egenskapene fisken da vil få, sammenliknet med andre metoder innenfor avlen (Chen et al., 2018).

Ved transgen teknologi benyttes det flere ulike metoder. Man kan injisere det genetiske materiale inn i fertiliserte egg ved hjelp av mikroinjeksjon (Maclean et al., 2002). Denne metoden er i dag den mest brukte metoden for å produsere transgen fisk (Chen et al., 2018). En utfordring med denne metoden er imidlertid at det er sjeldent at det nye genet faktisk tas opp i genomet (Sin, 1997). En annen utfordringer med denne metoden, kan være hos fisk med opake egg, der det blant annet at det kan være vanskelig å identifisere pro-nukleus. Tykkelsen på chorion kan også variere hos ulike fiskearter. Evnen individets genom har til å integrere det nye genetiske materialet, vil også variere (Tonelli et al., 2017).

Andre metoder som potensielt kan nyttes, er bruk av retrovirus, gen-pistoler, elektroporasjon, sperm-mediering etc. (Maclean et al., 2002). Elektroporasjon er en teknikk hvor det brukes elektriske pulser for å øke evnen til opptak av det genetiske materialet (Müller et al., 1992).

Sperm-mediering er en annen metode hvor man prøver å overføre genetisk materiale ved hjelp av liposomer i sperm (Maclean et al., 2002).

Transgenetiske metoder kan sørge for en raskere evolusjon, og man kan lage nye underarter som har bestemte egenskaper som vil være fordelaktige i produksjonen (Chen et al., 2018).

Transgenese har flere potensielle fordeler og anvendelsesområder i akvakulturen. En av de egenskapene det har blitt lagt særlig vekt på innenfor tilapiaproduksjonen, er som nevnt vekstrate, noe som transgenetiske metoder vil kunne være aktuell for. Andre potensielle anvendelsesområder er å kontrollere kjønnsmodningen, sterilitet, og som tidligere nevnt påvirke kjønnsutviklingen. Et annet fokusområde ved forskningen hos tilapia har også vært kulderesistens (El-Sayed, 2020).

Tilapia har også en rekke fordeler som gjør den svært aktuell for forskning på transgene teknikker. Mange ulike ting ved dens reproduksjon, som blant annet den korte generasjonstiden, som er på ca. 6-7 måneder, og en ikke-sesongavhengig produksjon. Dette gjør at det stadig er tilgang på disse til studier. Det er lett tilgang på embryoer, egg og yngel fra produsenter. Embryoene er delvis transparente, noe som gjør at man kan undersøke de for rapportørgener uten at de går tapt ved undersøkelsen. På grunn av dens størrelse, vil den også være lettere å håndtere enn andre laboratoriefisker som for eksempel medaka og zebrafisk (Maclean et al., 2002).

Egenskaper som naturlig nok vil ha spesielt stor økonomisk betydning for tilapiaproduksjonen, er å øke vekstraten og sørge for en god fôrutnyttelse. Å finne metoder for å oppnå dette er dermed svært sentralt. Dersom man setter inn veksthormon hos tilapia, noe

som også er blitt gjort blant annet på karpefisk, har dette vist at man har kunnet øke veksten hos fisken fra mellom 20 til 1000% (El-Sayed, 2020).

I en studie gjort på fisk i laksefamilien hvor det ble satt inn et gen for veksthormon i fisk som var saktevoksende, har man sett en god fremgang i vekst. Når genet ble satt inn på fisk som allerede har en god vekstrate, har man ikke sett den samme økningen i vekst. Dette kan tyde på at man også med seleksjonsavl, kan oppnå mye av de liknende effektene som de vi ser ved bruk av transgen teknikk (Bostock et al., 2010).

Som tidligere nevnt har tilsetning av hormoner i føret til fisken, vært den mest brukte metoden for å oppnå populasjoner med ett kjønn. Transgene teknikker har her et potensiale for å være et alternativ til dette.

Utfordringer ved forskningen på transgene teknikker kan være at de har opake egg, som kan gjøre det utfordrende ved injeksjon, og de kan være vanskeligere å stikke i sammenliknet med medaka og zebrafisk. Kunnskapen om den tidlige utviklingen og genomet, er heller ikke like bred, slik som hos de andre nevnte fiskene (Maclean et al., 2002).

Som man ser har teknologi innenfor transgenese og genmodifikasjon (GMO) stort potensiale, og en rekke ulike anvendelsesområder innenfor tilapiaproduksjonen. Men denne teknologien innebærer også noen potensielle ulemper og også en god del etiske betraktninger rundt det å gjøre genetiske endringer.

Selv om man i dag har forsket på mange ulike metoder i tillegg til mikroinjeksjon av fertiliserte egg, så er det fortsatt denne metoden som har vist seg å være mest effektiv

(Maclean et al., 2002). Men som nevnt er det ved denne metoden vanskelig å forutse i hvilken grad det genetiske materialet tas opp av fisken, og det er vanskelig å forutsi genotypen og videre fenotypen (El-Sayed, 2020, Maclean et al., 2002).

En annen utfordring er at fisk kan rømme fra akvakulturanlegg hvor disse metodene brukes. Det å ta nøye vurderinger av risikoene knyttet til dette, vil være svært viktig (El-Sayed, 2020). Et annet forhold er potensiell skepsis hos forbrukerne til mat som er genmodifisert. Dette vil trolig variere i ulike markeder, men kan innebære en økonomisk risiko for produsenten (El-Sayed, 2020).

### **Genome-editing technology**

Genome-editing technology (gen-editering) er teknologi som innebærer å redigere genomet ved insersjon, mutasjon, delesjon, eller hvor man erstatter deler av genomet til med annet genetisk materiale, eller hvor man på bestemte lokalisasjoner modifiserer det (Chen et al., 2018).

Ved denne teknologien kan det brukes spesifikke nukleas, blant annet zink-finger-nukleas (ZFN) og TALE-nukleas (transcription activator-like effector) (Li and Wang, 2017). Her kommer også CRISPR-teknologi inn. CRISPR står for “clustered regularly interspaced short-palindromic repeats. Studier har vist at disse metodene har vist seg å kunne være like, eller mer effektive enn de over nevnte nukleasene (Chen et al., 2018).

## **GIFT (genetically improved farmed tilapia)**

Genetically improved farmed tilapia, også forkortet GIFT, er et resultat av et prosjekt på selektiv avl av tilapia som foregikk fra 1988 til 1997 (Ansah et al., 2014). Målet med prosjektet var å lage en ny fiskestamme som hadde bedre produksjonsegenskaper, og som kunne være et viktig bidrag til å øke matvareproduksjonen (Ponzoni et al., 2011). Ved prosjektet ble det hentet Nile tilapia fra flere ulike land i Afrika og Asia. Det ble lagt vekt på ulike egenskaper ved tilapia, som vekstrate, fillet-egenskaper, overlevelse etc. (El-Sayed, 2020). Ved slutten av prosjektet, etter flere generasjoner, vokste fisken 85% raskere, sammenliknet med den første generasjonen (El-Sayed, 2020).

I dag er prinsippene for GIFT også kombinert med andre teknikker, som for eksempel hos GST-fisk (GenoMar Supreme Tilapia). Her bruker man DNA-fingerprinting og i tillegg gjøres det kontinuerlige bestemte rulleringer i paringen. Ved å bruke dette kan man oppnå en forøket seleksjonsintensitet og kortere generasjonsintervaller. Fra generasjon til generasjon, har man sett en forbedring på gjennomsnittlig 20%. De så også en økt overlevelse på 11% per generasjon. Hos GST-fisk legges det vekt på vekstrate, førutnyttelse, resistens mot sykdommer, salttoleranse og filet-utbytte (El-Sayed, 2020).

I følge Ponzoni og medarbeidere (Ponzoni et al., 2007) er den enkleste og billigste måten man kan øke produksjonen, i akvakulturen, ved å gjøre forbedringer innenfor genetikken. Et mål med GIFT er å motvirke de negative effektene innavl, og dårlig kontroll og håndtering av det genetiske materialet har (Cai et al., 2017). I en studie gjort av Brummet et al., hvor man sammenliknet domestisert og vill Nile tilapia når det gjaldt gjennomsnittlig slaktevekt og gjennomsnittlig vekstrate, kunne man se en signifikant forskjell på  $P<0.003$  i favør av vill tilapia på begge egenskaper (Brummett et al., 2004).

I dag finnes det mange ulike seleksjonsprogrammer, hvor noen av programmene bygger på GIFT. Blant annet Genomar, Chitalada, TabTim, GenoMar Supreme tilapia (GST) og GIFT Excell (Fitzsimmons, 2010). Avlsprogrammer som disse, kan bidra til å øke produksjonen, og bidra økonomisk i flere land og bidra med mat til en stadig økende verdensbefolkning. Men det er også en del potensielle utfordringer. Blant annet er dette utfordringer rundt hvilken påvirkning fisken har på artsmangfoldet og på miljøet (Ansah et al., 2014).

### **Triploiditet**

Et potensielt problem ved tilapiaoppdrett er overpopulasjon. Tilapia kan gyte gjennom hele året, og tidlig kjønnsmodning er et problem noe som kan medføre at veksten stopper opp. I tillegg til tidligere nevnte metoder som hybridisering, hormonbehandling og manuell sortering etter kjønn, er det å lage triploide fisk også en metode for å motvirke disse effektene ved å produsere fisk som er steril. For å lage triploid fisk brukes forøket trykk, varmesjokk eller kuldesjokk, eller en kombinasjon av disse (El-Sayed, 2020).

I en studie gjort av Brämick og medarbeidere (Brämick et al., 1995) så man ingen forskjell i vekt på de diploide og triploide fiskene ved kjønnsmodning, med ved slutten av eksperimentet, kunne man se en signifikant høyere sluttvekt på de triploide fiskene sammenliknet med de diploide kontrollfiskene. Man kunne se en forskjell mellom kjønnene, hvor hunnkjønn viste en større økning i størrelse med 95% enn det hannene gjorde, som viste 66%, når man sammenliknet de med sine kontroller (Brämick et al., 1995). Andre studier har imidlertid vist at Nile tilapia hadde lavere vekst som triploid enn som diploid (El-Sayed, 2020). Men ulike studier har vist ulike resultater og studiene er gjort under ulike forhold og

produksjonssystemer, noe som gjør det vanskelig å konkludere og det bør gjøres ytterligere forskning på området.

### **Gynogenese og androgenese**

Ved gynogenese vil alt det genetiske materialet stamme fra mor. Gynogenese fungerer ved at man bestråler DNAet, slik at det blir denaturert. Ved androgenese starter man med å inaktivere det maternale genomet. Deretter dupliserer man ved hjelp av å utsette zygoten for et fysisk sjokk (El-Sayed, 2020). Ved hjelp av disse metodene kan man oppnå høy grad av innavl og at de er homozygote. Man kan direkte lage populasjoner med ett kjønn, hvor hannene er YY og hunnene er XX. Eller man kan få monopopulasjon i løpet av en generasjon (Myers et al., 1995). De homozygote har imidlertid ofte dårlig overlevelse. Hos de homozygote kan man selektere vekk de med letale eller skadelige gener. Krysninger mellom de homozygote, vil produsere heterozygote (El-Sayed, 2020). Gynogenese og androgenese er teknikker som i dag ikke er kommersielt tilgjengelige (Lozano, 2011).

### **Kuldetoleranse**

Tilapia kan leve under en rekke ulike miljøforhold, men en begrensning for tilapiaproduksjonen er imidlertid temperaturen. Temperaturområdet tilapia trives i ligger fra ca. 25 til 32 grader. Temperaturen vil dermed være en begrensende faktor, spesielt i subtropiske- og tempererte områder (El-Sayed, 2020). Tilapia tåler ikke temperaturer under ca. 11 grader over tid (Towers, 2005). Dersom fisken oppholder deg i denne temperaturen over tid, vil mortaliteten øke. Allerede ved 20 grader ser man at førinntaket synker (El-Sayed, 2020). Under 22 grader, vil reproduksjonen stoppe opp (Lozano, 2011). Temperaturtoleransen vil variere med flere forhold: hvilken art det er, hvilken stamme, størrelse på fisken, føringstid, eksponeringstid etc. Hos Nile tilapia har man sett at jo lengre vakk man

kommer fra ekvator, jo mer tolerant er den for kulde, noe som tyder på en naturlig seleksjon (El-Sayed, 2020).

Fisk som lever i nordlige områder, uttrykker antifreeze-proteiner og antifreeze-glykoproteiner som virker ved å senke temperaturen før når proteinene fryser, altså at de tåler mer kulde. Det å bruke transgene metoder for å øke kuldetoleransen kan dermed være aktuelt i tempererte områder (El-Sayed, 2020).

Genetisk seleksjon kan også benyttes for å oppnå økt kuldetoleranse. Ved å studere de ulike artene og hybridene, har man sett hvilke av de som er mest tolerante for kulde. Man så også på hos hvilke av de arvegraden for egenskapen var størst. Man har sett blant annet at økt seleksjon for kuldetoleranse hos blå tilapia gav større toleranse, og at denne vokste bedre ved kaldere temperaturer enn det Nile tilapia gjorde (El-Sayed, 2020).

## Sykdomsresistens

Det kan være aktuelt å fokusere på å øke fiskens evne til å motstå sykdom, altså sykdomsresistens (El-Sayed, 2020). Tilapia er generelt kjent for å ha god resistens mot sykdom (Lozano, 2011). Med den store ekspansjonen i produksjonen, stresspåvirkning og med introduksjon av tilapia innenfor nye geografiske områder som dermed potensielt en spredning av ulike patogene agens, har det vært økende fokus på management i de senere år (El-Sayed, 2020).

I en studie som ble gjort av Cai og medarbeidere (Cai et al., 2004) så man på Nile tilapia, blå tilapia og en hybrid mellom disse to, og deres resistens mot bakterien *Aeromonas sobriae*. Her viste det seg store forskjeller mellom de tre i den ikke-spesifikke immuniteten hos fiskene.

Hybriden viste størst grad av motstand, deretter kom Nile tilapia, og så blå tilapia som hadde dårligst. Denne forskjellen i immunitet hos fiskene, kan være grunnlag for å bruke målrettet avl til å selektere for fisk som har resistens mot et agens, eventuelt flere. Avl på resistens mot virus og parasitter vil også være aktuelt, spesielt der andre virkemidler, som for eksempel vaksiner ikke fungerer (El-Sayed, 2020).

Ettersom tilapiaproduksjonen øker og intensiveres, vannkvaliteten kan variere og produksjon flyttes til andre miljøer med andre temperaturer, vil dette påvirke sykdomsstatusen hos fisken (Lozano, 2011). Å øke fiskens sykdomsresistens vil trolig bli et viktigere område for forskningen, også med tanke på fiskens velferd.

## **Andre utfordringer i sammenheng med avl**

Som vi ser er det mange metoder som kan være aktuelle for å oppnå genetisk fremgang hos tilapia. De ulike metodene har fordeler og utfordringer. En del av utfordringene er beskrevet under de ulike metodene. I dette avsnittet ønsker vi å komme inn på noen ytterlige perspektiver ved avl på tilapia:

### **Tilgang på genetisk materiale og eggproduksjon**

Tilapia-oppdrettere kan få tilgang til egg på mange måter. Det kan være via juvenile som tas til side i akvakultursystemer, de kan være fra naturen, det kan være fra en eggprodusent, de kan kjøpes fra klekkerier, eller produseres der hvor bonden selv driver oppdrett (Little and Hulata, 2000).

Hos fisk i akvakultur generelt i dag, er det fortsatt slik at størsteparten av fisken fortsatt kommer fra fisk som nylig har blitt domestisert, eller som er vill. På liten skala foregår fortsatt mye av det genetiske arbeidet ved grunnleggende seleksjonsarbeid, der man selekterer for både additive og ikke-additive egenskaper (Ansah et al., 2014). Ettersom man i tilapiaproduksjonen har sett en overgang fra semi-intensive systemer, til en mer intensiv produksjonsform, har man sett at eggproduksjonen ikke har klart å følge denne utviklingen, og det har vært mangel i flere deler av verden (El-Sayed, 2020).

Det vil være ulike utfordringer med de ulike måtene å drive eggproduksjon på i forhold til klekkingsmetoder, hvordan man bruker genetiske metoder og hvor god kontroll man har på genetikken. Ved dårlig kontroll på det genetiske grunnlaget hos fisken, vil dette kunne medføre fisk med dårligere egenskaper, større grad av innavl, såkalt genetisk drift og det kan også forekomme større grad av hybridisering (Bostock et al., 2010). Et resultat av dette kan hos den enkelte tilapia-oppdretteren få store produksjonsmessige, og økonomiske konsekvenser. På klekkeriene kan dette medføre at man tar inn mer villfisk, eller tar inn fisk fra andre populasjoner (Bostock et al., 2010).

Ved seleksjonsprogrammer, slik som blant annet GIFT, ser man stor forbedring av egenskaper som blant annet vekst. Ved disse programmene ønsker man å hindre de negative effektene vi ser ved innavl og dårlig genetisk management. Innenfor andre fiskearter, kanskje spesielt lakseproduksjonen, ser vi liknende avlsprogrammer som har medført store forbedringer på ulike egenskaper hos fisken. Eggene kjøpes i stor grad av selskaper som bruker liknende programmer eller metoder som GIFT. Seleksjonsavl vil kunne gi store fordeler, men det vil også være en fordel å gjøre bruk av andre teknikker også (Bostock et al., 2010).

## **Seleksjon av stamfisk**

Et godt stamfisk-management er helt essensielt for eggproduksjonen. En utfordring i tilapia-avlen er å ha kontinuerlig tilgang på stamfisk av god kvalitet. Som nevnt under avsnittet med produksjon av hybrider, kan det å holde en rene stamfiskpopulasjoner over tid være en utfordring. Stamfisken kan bli kontaminert av fisk med et liknende utseende og det kan skje feil under inndelingen (El-Sayed, 2020).

For å oppnå en best mulig stamfiskpopulasjon, er det flere ting som bør være på plass. Man bør kjenne opprinnelsen til fisken, slik at man kjenner det genetiske grunnlaget. Fisken bør ikke ha noen deformiteter eller sårskader. Fisken bør ikke være for liten i størrelse, eller for gammel. Dette har innvirkning på fiskens reproduksjonsevne. Det bør være god kontroll på inntaksvannet. Dette skal filtreres for å hindre at tilapia kommer inn med inntaksvannet (El-Sayed, 2020).

Det er mange faktorer som kan påvirke stamfisken i tillegg til det som er nevnt over. Fisken vil påvirkes av førets kvalitet og føringsrutiner, håndtering, tetthet, vannkvalitet, hannkjønn:hunnkjønn-ratio, gyte-intervall etc. (El-Sayed, 2020). Vi vil ikke gå nærmere inn på disse faktorene i denne teksten.

## **Artsmangfold**

Tilapia kan leve under en rekke ulike forhold, noe som også er en del av årsaken til at den i dag har en av de største akvakulturene i verden. Opprinnelig stammer tilapia fra Afrika og deler av Midtøsten (Canonico et al., 2005), men er i dag en fisk vi finner i over 130 land (El-Sayed, 2020). Tilapia er regnet for å være det vi kaller en invasiv art. Med invasiv art mener man at en art som opprinnelig ikke tilhører et område blir introdusert, og hvor den viser stor

evne til å tilpasse seg det nye miljøet. Dette kan medføre at andre arter drives bort, og en påvirkning av økosystemet og det biologiske mangfoldet (Mæhlum et al., 2019). I de landene hvor denne arten har blitt introdusert, kan man også finne tilapia under ville forhold (Canonico et al., 2005).

Det har tidligere vært vanlig å ha ferskvannsfisk, slik som tilapia i mer lukkede systemer som blant annet vanndammer på land. Det er imidlertid økende interesse for å bruke flytende systemer hvor de har vekstfasen sin ute på større vann. Å ha fisken i slike innebærer en risiko for rømming (Canonico et al., 2005) noe som vil ha betydning for økosystemet i det vannet der fisken holdes. Fisk som rømmer har vist seg å kunne spre seg raskt, og ulike arter av fisk vil ha ulike egenskaper som gjør de mer eller mindre rustet for å overleve i et miljø. Tilapia er som nevnt en invasiv art, og har flere egenskaper som gjør den egnet til å overleve i nye miljøer hvor den er blitt introdusert, og eventuelt fortrenge andre arter. Man har sett spesielt at tilapia har evne til å fortrenge bort annen fisk fra gyteplassene deres. Tilapia har også evnen til å kunne reproduusere hele året. Tilapia av *Oreochromis*-arten, er en munnruger, som kan flytte på seg og trenger ikke et spesielt habitat (Canonico et al., 2005).

Tilapia er en art som vi har sett kan trives under en rekke varierende forhold og kan ernære seg på en rekke ulike trofiske nivåer og er også territoriell. De har også en god evne til reproduksjon (Canonico et al., 2005). Som vi ser kan tilapias vekst og andre egenskaper, for eksempel resistens mot sykdom, økes ved ulike genetiske metoder, blant annet ved seleksjonsavl og transgenetiske metoder. Ifølge Ansah og medarbeidere (Ansah et al., 2014), har GIFT en signifikant større vekstrate enn det de lokale stammene i Afrika har. Semi-intensiv produksjon finner vi ofte i dammer (El-Sayed, 2020). Dermed kan tilapia

utkonkurrere de artene man finner lokalt elver, innsjøer og vannveier, da de ender opp med å konkurrere om gyteplasser, habitat og maten som er tilgjengelig (Canonico et al., 2005).

## **Andre utfordringer**

Det eksisterer som vi ser i dag en rekke ulike avlsmetoder og prinsipper, men for at disse metodene skal komme i anvendelse, vil det være ulike faktorer som spiller inn.

Hvilke utfordringer det er vil kunne variere fra land til land. Dette kan være ulik tilgang på land og vann, ulike miljøforhold, ulike markedsmessige utfordringer, administrative forhold, variasjon i grad av forskning på akvakultur og ulike sosioøkonomiske forhold som ligger til grunn. Disse forholdene kan også variere mye innad i et land og vil også variere ut ifra hvilken produksjonsform som brukes (Cai et al., 2017). Logistikk er et annet område som det er knyttet ulike utfordringer til. Det kan være lange transportstrekninger, varierende værforhold og det kan være varierende kvalitet på vegnettet som gjør det vanskelig å transportere fisken (Cai et al., 2017). Det kan også være ustabil strømtilgang noe som gir ustabile forhold ved lagring av fisk (Ansah et al., 2014). Hvordan oppdretter driver produksjonen vil være avhengig av mange faktorer som miljøet, økonomi og også kunnskap hos oppdretter. Kostnadene ved produksjonen vil være ulik avhengig av hvor produksjonen er plassert. Generelt er det dyrere å produsere tilapia i tempererte områder, da tilapia tåler kulde dårlig (Norman-López and Bjørndal, 2009b).

Tilgang på de genetiske ressursene vil være en viktig begrensende faktor innenfor produksjonen (Ponzoni et al., 2010). I en artikkel fra 2008 fra Toledo og medarbeidere, hvor de fokuserte på tilapiaoppdrett på Filippinene, var tilgang og pris på tilapiaegg viktige faktorer som spiller inn for oppdrettere som driver i mindre skala (Toledo et al., 2008).

Som nevnt tidligere i oppgaven innenfor produksjonsdelen, er tilapiemarkedet segmentert blant annet på grunn av faktorer som ulike produksjonsmiljøer- og metoder, transport og mattrygghet. Ut ifra at det produseres ulike kvaliteter av fisken vil det også bli ulike kostnader å produsere fisk innenfor de ulike markedene (Norman-López and Bjørndal, 2009a, Wikipedia, 2016). En kan tenke seg at de overnevnte faktorene kan være medvirkende årsaker til om nye metoder og veldefinerte avlslinjer blir tatt i bruk i praksis.

## Takk til bidragsytere

Vi ønsker å takke vår veileder professor Øystein Evensen for all hjelp og veiledning under arbeidet vårt med denne oppgaven.

## Summary

*Title:* Production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and important challenges regarding environment, infectious diseases and genetics

*Authors:* Josefin Bendén, William Reed, Malin Slettebø og Ingeborg Sørensen Stene

*Supervisor:* Øystein Evensen, Department of Paraclinical Sciences (PARAFAG)

The expansion of the tilapia industry has resulted in a number of challenges that today limit production and threaten food security and living standards for millions of people globally. Tilapia is the most widespread farmed fish in the world, and at the same time the types of production are very varied and can be adapted to the individual farmer's resources. That's why you can find everything from horticulture to high-tech, commercial tilapia production around the world. In addition to being a farmed fish that mainly supplies internal markets in developing countries, a significant international market for tilapia products has also emerged. The semi-intensive production systems contribute to 90 % of all tilapia farmed globally and approximately 82.6% are produced in fresh water. The production conditions are therefore largely characterized by weather conditions and important environmental challenges are oxygen saturation in the water, proper fertilization, the depth and design of the pond, ammonia and nitrite concentrations, pH, alkalinity and water turbidity. Bacteria, viruses, parasites and

fungal infections have become an increasing challenge for the production of Nile tilapia globally. Increased biomass, high infection pressure, intensive forms of production, stress, longer transports, more handling, poor water quality and antibiotic resistance are factors that have increased susceptibility to infections. There are several challenges in the production of tilapia, including early sexual maturation as this leads to reduced and varying growth. There are various genetic methods and modern techniques that can be used to meet the challenges. However, the economy and availability of the methods will affect whether these are used. This applies in particular to those who produce tilapia for their own or local consumption in developing countries.

## Referanseliste

- ABDEL-GHANY, H. M., EL-SAYED, A.-F. M., EZZAT, A. A., ESSA, M. A. & HELAL, A. M. 2019. Dietary lipid sources affect cold tolerance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Thermal Biology*, 79, 50-55.
- ABDEL-TAWWAB, M., HAGRAS, A. E., ELBAGHDADY, H. A. M. & MONIER, M. N. 2014. Dissolved Oxygen Level and Stocking Density Effects on Growth, Feed Utilization, Physiology, and Innate Immunity of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of Applied Aquaculture*, 26, 340-355.
- ABU-ELALA, N., ABDELSALAM, M., MAROUF, S. & SETTA, A. 2015. Comparative analysis of virulence genes, antibiotic resistance and gyrB-based phylogeny of motile Aeromonas species isolates from Nile tilapia and domestic fowl. *Lett Appl Microbiol*, 61, 429-36.
- AKETCH, B. O., ANG'IENDA, P. O., RADULL, J. O. & WAINDI, E. N. 2014. Effect of stocking density on the expression of glucose transporter protein 1 and other physiological factors in the Lake Victoria Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *International Aquatic Research*, 6, 69.
- AKOLL, P., KONECNY, R., MWANJA, W. W., NATTABI, J. K., AGOE, C. & SCHIEMER, F. 2012. Parasite fauna of farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and African catfish (*Clarias gariepinus*) in Uganda. *Parasitology Research*, 110, 315-323.
- ALI, S. E., GAMIL, A. A. A., SKAAR, I., EVENSEN, Ø. & CHARO-KARISA, H. 2019. Efficacy and safety of boric acid as a preventive treatment against *Saprolegnia* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Scientific Reports*, 9, 18013.
- AMOAKO, M. Infestation of ectoparasites on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in aquaculture production in the Ashanti region, Ghana. 2006.
- ANSAH, Y., FRIMPONG, E. & HALLERMAN, E. 2014. Genetically-Improved Tilapia Strains in Africa: Potential Benefits and Negative Impacts. *Sustainability (Basel, Switzerland)*, 6, 3697-3721.
- ANSHARY, H., KURNIAWAN, R. A., SRIWULAN, S., RAMLI, R. & BAXA, D. V. 2014. Isolation and molecular identification of the etiological agents of streptococcosis in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in net cages in Lake Sentani, Papua, Indonesia. *Springerplus*, 3, 1-11.
- AQUAVAC, A. S. P. 2017a. AQUAVAC Strep Sa1.
- AQUAVAC, A. S. P. 2017b. What is Streptococcosis.
- AQUAVAC, A. S. P. 2017c. What is AQUAVAC Strep Si?
- ARGUEDAS C, D., ORTEGA S, C., MARTÍNEZ C, S. & ASTROZA C, A. 2017. Parasites of Nile Tilapia larvae *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae) in concrete ponds in Guanacaste, Northern Costa Rica. *Cuadernos de investigación UNED*, 9.
- ASPHOLM, M. 2018. Aeromonas og Vibrio.
- AVNIMELECH, Y. & RITVO, G. 2003. Shrimp and fish pond soils: processes and management. *Aquaculture*, 220, 549-567.
- BARAS, E. 2000. Phenotypic sex differentiation of blue tilapia under constant and fluctuating thermal regimes and its adaptive and evolutionary implications. *Journal of fish biology*, 57, 210-223.
- BAROILLER, J. F., CHOURROUT, D., FOSTIER, A. & JALABERT, B. 1995. Temperature and sex chromosomes govern sex ratios of the mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*. *Journal of experimental zoology*, 273, 216-223.
- BARRÍA, A., TRINH, T. Q., MAHMUDIN, M., BENZIE, J. A. H., CHADAG, V. M. & HOUSTON, R. D. 2020. Genetic parameters for resistance to Tilapia Lake Virus (TiLV) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 522, 735126.
- BART, A. N., PRASAD, B. & THAKUR, D. P. 2013. Effects of incubation water hardness and salinity on egg hatch and fry survival of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus). *Aquaculture research*, 44, 1085-1092.
- BEARDMORE, J., MAIR, G. & LEWIS, R. 2001. Monosex male production in finfish as exemplified by tilapia: applications, problems, and prospects. *Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture*. Elsevier.
- BJELLAND, A. M. 2020. Bacteria in aquaculture - fish.
- BLAIR, S., BARLOW, C., MARTIN, E., SCHUMAKER, R. & MCINTYRE, J. 2020. Methemoglobin determination by multi-component analysis in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) possessing unstable hemoglobin. *MethodsX*, 7, 100836-100836.

- BOSTOCK, J., MCANDREW, B., RICHARDS, R., JAUNCEY, K., TELFER, T., LORENZEN, K., LITTLE, D., ROSS, L., HANDISYDE, N., GATWARD, I. & CORNER, R. 2010. Aquaculture: global status and trends. *Philosophical transactions of the royal society*.
- BOYD, C. E. 2015. *Water Quality*, Cham, Cham: Springer International Publishing AG.
- BREVES, J. P., HASEGAWA, S., YOSHIOKA, M., FOX, B. K., DAVIS, L. K., LERNER, D. T., TAKEI, Y., HIRANO, T. & GRAU, E. G. 2010. Acute salinity challenges in Mozambique and Nile tilapia: differential responses of plasma prolactin, growth hormone and branchial expression of ion transporters. *Gen Comp Endocrinol*, 167, 135-42.
- BRUMMETT, R. E., ANGONI, D. E. & POUOMOGNE, V. 2004. On-farm and on-station comparison of wild and domesticated Cameroonian populations of *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 242, 157-164.
- BRÄMICK, U., PUCKHABER, B., LANGHOLZ, H.-J. & HÖRSTGEN-SCHWARK, G. 1995. Testing of triploid tilapia (*Oreochromis niloticus*) under tropical pond conditions. *Aquaculture*, 137, 343-353.
- BULLER, N. 2014. Bacteria and fungi from fish and other aquatic animals: a practical identification manual. . *Department of Agriculture and Food Western Australia*, 2.
- BULLOCK, G. L. & HERMAN, R. L. 1985. Edwardsiella infections of fishes. *US Fish & Wildlife, Publications* 132.
- CAI, J., QUAGRAINIE, K. & HISHAMUNDA, N. 2017. Social and Economic Performance of Tilapia Farming in Africa. *FAO Fisheries and Aquaculture Circular*.
- CAI, W.-Q., LI, S.-F. & MA, J.-Y. 2004. Diseases resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), blue tilapia (*Oreochromis aureus*) and their hybrid (female Nile tilapia x male blue tilapia) to *Aeromonas sobria*. *Aquaculture*, 229, 79-87.
- CANONICO, G. C., ARTHINGTON, A., MCCRARY, J. K. & THIEME, M. L. 2005. The effects of introduced tilapias on native biodiversity. *Aquatic conservation: marine and freshwater ecosystem*.
- CARVALHO, T. B., MENDONÇA, F. Z., COSTA-FERREIRA, R. S. & GONÇALVES-DE-FREITAS, E. 2013. The effect of increased light intensity on the aggressive behavior of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae). *Zoologia (Curitiba)*, 30, 125-129.
- CELIK, E. 2012. Tilapia Culture Review. Norwegian University of Life Sciences, Ås.
- CENTRE FOR THE PROMOTION OF IMPORTS FROM DEVELOPING COUNTRIES. 2018. *Exporting tilapia to Europe* [Online]. Available: <https://www.cbi.eu/market-information/fish-seafood/tilapia> [Accessed 30/10 2020].
- CHANG, C. T. & WHIPPS, C. M. 2015. Activity of Antibiotics against Mycobacterium Species Commonly Found in Laboratory Zebrafish. *Journal of aquatic animal health*, 27, 88-95.
- CHEN, C.-Y., CHAO, C.-B. & BOWSER, P. 2006. Infection of Tilapia *Oreochromis* sp. by *Vibrio vulnificus* in Freshwater and Loó salinity Environments. *Journal of The World Aquaculture Society*, 37, 82-88.
- CHEN, J., FAN, Z., TAN, D., JIANG, D. & WANG, D. 2018. A Review of Genetic Advances Related to Sex Control and Manipulation in Tilapia. *Journal of the world aquaculture society*, 49.
- DAN, N. C. & LITTLE, D. C. 2000. Overwintering performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) broodfish and seed at ambient temperatures in northern Vietnam. *Aquaculture Research*, 31, 485-493.
- DE ALEXANDRE SEBASTIÃO, F., PILARSKI, F. & LEMOS, M. V. F. 2013. Composition of Extracellular Polymeric Substances (EPS) produced by *Flavobacterium columnare* isolated from tropical fish in Brazil. *Braz J Microbiol*, 44, 861-864.
- DE OLIVEIRA, T. F. 2016. Therapeutic efficacy of florfenicol against *Streptococcus agalactiae* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Universidade Federal de Minas Gerais*.
- DE OLIVEIRA, T. F., QUEIROZ, G. A., TEIXEIRA, J. P., FIGUEIREDO, H. C. P. & LEAL, C. A. G. 2018. Recurrent *Streptococcus agalactiae* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) treated with florfenicol. *Aquaculture*, 493, 51-60.
- DE SANTA LACERDA, I., GONÇALVES, Y., LEAL DE OLIVEIRA, S., DEMARQUI, F., KREWER, C., GISELE, G., FELIX, W. & COSTA, M. 2015. Efficacy of *Aeromonas hydrophila* S-layer bacterins with different protein profiles as a vaccine in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *African Journal of Microbiology Research*, 9. 1770-1777.
- DECLERCQ, A. M., HAESEBROUCK, F., VAN DEN BROECK, W., BOSSIER, P. & DECOSTERE, A. 2013. Columnaris disease in fish: a review with emphasis on bacterium-host interactions. *Veterinary Research*, 44, 27.

- DELANNOY, C. M. J., CRUMLISH, M., FONTAINE, M. C., POLLOCK, J., FOSTER, G., DAGLEISH, M. P., TURNBULL, J. F. & ZADOKS, R. N. 2013. Human *Streptococcus agalactiae* strains in aquatic mammals and fish. *BMC Microbiology*, 13, 41.
- DEMPSTER, P., BAIRD, D. J. & BEVERIDGE, M. C. M. 1995. Can fish survive by filter-feeding on microparticles? Energy balance in tilapia grazing on algal suspensions. *Journal of Fish Biology*, 47, 7-17.
- DONBÆK, C., MORK, A. & RAVLO, I. 2019. *Early mortality in tilapia fingerlings on Lake Kariba in Zambia*. NMBU Veterinærhøgskolen.
- DORGHAM, M. Studies on *Aeromonas hydrophila* in Cultured *Oreochromis niloticus* at Kafr El Sheikh Governorate, Egypt with Reference to Histopathological Alterations in Some Vital Organs. 2014.
- EAT THIS, N. T. 2015. *How Tilapia is a More Unhealthy Food Than Bacon* [Online]. Available: <https://www.eatthis.com/tilapia-is-worse-than-bacon> [Accessed 29/10 2020].
- EISSA, A., ZAKI, M. & AZIZ, A. 2010b. *Flavobacterium columnare / Myxobolus tilapiae Concurrent Infection in the Earthen Pond Reared Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) during the Early Summer.. Interdisciplonary Bio Central*, 2.
- EISSA, N., EL-GHIET, E. N. A., SHAHEEN, A. A. & ABBASS, A. A. Characterization of pseudomonas species isolated from tilapia "Oreochromis niloticus" in Qaroun and Wadi-El-Rayyan lakes, Egypt. 2010a.
- EL-GREISY, Z. A. E.-B., ELGAMAL, A. E. E. & AHMED, N. A. M. 2016. Effect of prolonged ammonia toxicity on fertilized eggs, hatchability and size of newly hatched larvae of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Egyptian journal of aquatic research*, 42, 215-222.
- EL-JAKEE, J. K., MARZOUK, M. S., MAHMOUD, N. A. & EL-HADY, A. 2008. Trails to create Edwardsiellosis native vaccines for freshwater fish in egypt. *Cairo University*.
- EL-SAYED, A.-F. M. 2006. Tilapia culture. *CABI*, 1.
- EL-SAYED, A.-F. M. 2020. Tilapia Culture. Second Edition ed.: Academic Press Elsevier.
- EL-SAYED, A.-F. M. & KAWANNA, M. 2004. Effects of photoperiod on the performance of farmed Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: I. Growth, feed utilization efficiency and survival of fry and fingerlings. *Aquaculture*, 231, 393-402.
- EL-SAYED, A.-F. M. & KAWANNA, M. 2008. Optimum water temperature boosts the growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry reared in a recycling system. *Aquaculture research*, 39, 670-672.
- EL-SAYED, A. 2008. Tilapia feed and feeding in semi-intensive culture systems.
- ELDEEN, A. I. N., OSMAN, H. M., ZAKI, M. & ALYABO-STA, H. 2017. Mass Mortality in Cultured Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* in Kafr El-Sheikh Province, Egypt Due to Saprolegniosis with Emphasis on Treatment Trials. *Journal of Biological Sciences*, 18, 39-45.
- ELMAHDI, S., DASILVA, L. V. & PARVEEN, S. 2016. Antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in various countries: A review. *Food Microbiology*, 57, 128-134.
- EYNGOR, M., ZAMOSTIANO, R., KEMBOU TSOFACK, J. E., BERKOWITZ, A., BERCOVIER, H., TINMAN, S., LEV, M., HURVITZ, A., GALEOTTI, M., BACHARACH, E. & ELDAR, A. 2014. Identification of a Novel RNA Virus Lethal to Tilapia. *J Clin Microbiol*, 52, 4137-4146.
- FALCH, Ø. 2013. Tilapia production in Europe. Inocap.
- FAWZY, N., OSMAN, K., EL-DESOKY, M., ALI, M. & ABDELRAHMAN, S. 2014. Streptococciosis in tilapia: Clinico-pathological picture of experimentally infected tilapia. *Life Science Journal*, 11(9):1005-1012.
- FIGUEIREDO, H. C. P., NETTO, L. N., LEAL, C. A. G., PEREIRA, U. P. & MIAN, G. F. 2012. *Streptococcus iniae* outbreaks in Brazilian Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) farms. *Braz J Microbiol*, 43, 576-580.
- FINANSLEKSIKONET. 2020. *Hetrogent marked* [Online]. Available: [https://www.finansleksikon.no/Regnskap/H/Hetrogent\\_marked.html](https://www.finansleksikon.no/Regnskap/H/Hetrogent_marked.html) [Accessed 16/11 2020].
- FINEMAN-KALIO, A. S. 1988. Preliminary observations on the effect of salinity on the reproduction and growth of freshwater Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), cultured in brackishwater ponds. *Aquaculture Research*, 19, 313-320.
- FISKEHELSERAPPORTEN 2019. Veterinærinstituttet.
- FITZSIMMONS, K. 2010. Potential to increase global tilapia production. *Global Outlook for Aquaculture Leadership*, Kuala Lumpur.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS 1996. Artifical Reproduction and Pond Rearing of the African Catfish *Clarias Gariepinus* in Sub-Saharan Africa - A Handbook. In: GRAAF, G. D. & JANSSEN, H. (eds.). Rome.

- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS 2018. Assessment and monitoring of global tilapia markets - a forthcoming t....
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS 2020a. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS 2020b. Tilapia production and trade with a focus on India.
- FOUZ, B., ALCAIDE, E., BARRERA, R. & AMARO, C. 2002. Susceptibility of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to vibriosis due to *Vibrio vulnificus* biotype 2 (serovar E). *Aquaculture*, 212, 21-30.
- FRANCIS-FLOYD, R. 2011. Mycobacterial Infections of Fish. *Southern regional aquaculture center*, 4706.
- GJØEN, H. M. A new era: The merging of quantitative and molecular genetics—Prospects for tilapia breeding programs. Proceedings of the sixth international symposium on tilapia in aquaculture, 2004. Bureau of Fisheries and Aquatic Resources Manila, PH, 379-399.
- GLOBAL SEAFOODS NORTH AMERICA. 2019. *Is Tilapia Bad for You?* [Online]. Available: <https://globalseafoods.com/blogs/news/why-you-shouldnt-eat-tilapia> [Accessed 18/11 2020].
- GRABOWSKI, L., LAPATRA, S. & CAIN, K. 2004. Systemic and mucosal antibody response in tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), following immunization with *Flavobacterium columnare*. *Journal of fish diseases*, 27 10, 573-81.
- GUERRA-SANTOS, B., LÓPEZ-OLMEDA, J. F., DE MATTOS, B. O., BAIÃO, A. B., PEREIRA, D. S. P., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., CERQUEIRA, R. B., ALBINATI, R. C. B. & FORTES-SILVA, R. 2017. Synchronization to light and mealtime of daily rhythms of locomotor activity, plasma glucose and digestive enzymes in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 204, 40-47.
- GUNAL, A. C. & KÖKSAL, G. 2005. The acute toxicity of ammonia on Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) larvae and fingerlings. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29, 339-344.
- HAL, A. M. & EL-BARBARY, M. I. 2020. Gene expression and histopathological changes of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) infected with *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Aquaculture*, 526, 735392.
- HAMOUDA, A., MOUSTAFA, E. M. & ZAYED, M. M. 2019. Overview on the Most Prevailing Bacterial Diseases Infecting *Oreochromis niloticus* at Aswan Fish Hatchery, Egypt *Advances in Animal and Veterinary Science*, 7(11):950-961.
- HANSON, L. A., HEMSTREET, W. G. & HAWKE, J. P. 2019. Motile *Aeromonas Septicemia* (MAS) in fish. *SRAC Publication No. 0478*.
- HASHISH, E., MERWAD, A., ELGAML, S., AMER, A., KAMAL, H., ELSADEK, A., MAREI, A. & SITOHY, M. 2018. *Mycobacterium marinum* infection in fish and man: epidemiology, pathophysiology and management; a review. *Veterinary Quarterly*, 38, 35-46.
- HASSAN, H. A., DING, X., ZHANG, X. & ZHU, G. 2019. Fish borne *Edwardsiella tarda* eha involved in the bacterial biofilm formation, hemolytic activity, adhesion capability and pathogenicity. *Arch Microbiol*, 202, 835-842.
- HASSAN, W. & MAHMOUD, M. A. Pathogenicity of *Achlya proliferoides* and *Saprolegnia diclina* (Saprolegniaceae) Associated with Saprolegniosis Outbreaks in Cultured Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). 2013.
- HEIBERG, A. 2018. *Hybrid – biologi* [Online]. Available: [https://snl.no/hybrid\\_-biologi](https://snl.no/hybrid_-biologi) [Accessed 04/11 2020].
- HEMPFLING, E. 2015. *The market situation for tilapia in Europe* [Online]. Available: <http://www.infopesca.org/sites/default/files/complemento/actividadesrecientes/adjuntos/1369/13%20Hempel%20-%20The%20market%20situation%20for%20tilapia%20in%20Europe.pdf> [Accessed 30/10 2020].
- HERLINA, C., YANUHAR, U. & MAFTUCH 2019. Effect Of Extracellular Proteins (ECPS) Edwardsiella Tarda On The Innate Immune Response In Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*). *International Journal of Scientific & Technology Research*, 8, 38-42.
- HOLMYARD, N. 2019. *2025 global salmon growth forecasts overestimated, new paper argues* [Online]. Available: <https://www.seafoodsource.com/news/supply-trade/2025-global-salmon-growth-forecasts-overestimated-new-paper-argues> [Accessed 05/11 2020].
- HORNSBY, M. A. W., SABBAH, S., ROBERTSON, R. M. & HAWRYSHYN, C. W. 2013. Modulation of environmental light alters reception and production of visual signals in Nile tilapia. *J Exp Biol*, 216, 3110-3122.
- HUI, W., XIAOWEN, Z., HAIZHEN, W., JUN, Q., PAO, X. & RUIWEI, L. 2014. Joint effect of temperature, salinity and pH on the percentage fertilization and hatching of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture research*, 45, 259-269.

- IQBAL, K., QURESHI, N., ASHRAF, M., KHAN, N., JAVID, A., ABBAS, F., MUSHTAQ, M., RASOOL, F. & MAJEED, H. 2012. Effect of different salinity levels on growth and survival of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Animal and Plant Sciences*, 22, 919-922.
- JACOBS, J., LAZUR, A. & BAYA, A. 2004. Prevention and disinfection of *Mycobacterium* sp. In *aquaculture A Maryland Sea Grant Extension Publication*.
- JANSEN, D., CUDJOE, K. & BRUN, E. 2018. Investigation of tilapia mortality in Ghana. . *Norwegian Veterinary Institute Report* 17–2018 ISSN 1890–3290.
- JANSEN, M. D., DONG, H. T. & MOHAN, C. V. 2019. Tilapia lake virus: a threat to the global tilapia industry? *Reviews in Aquaculture*, 11, 725-739.
- JITRAKORN, S., GANGNONNGIW, W., BUNNONTAE, M., MANAJIT, O., RATTANAROJPONG, T., CHAIVISUTHANGKURA, P., DONG, H. T. & SAKSMERPROME, V. 2020. Infectious cell culture system for concurrent propagation and purification of Megalocytivirus ISKNV and nervous necrosis virus from Asian Sea bass (*Lates calcarifer*). *Aquaculture*, 520, 734931.
- JOSUPEIT, H. 2004. World Market of Tilapia.
- JOSUPEIT, H. 2005. World Market of Tilapia. *Globefish Research Programme*, 79.
- JUNG-SCHROERS, V., ADAMEK, M., WOHLSEIN, P., WOLTER, J., WEDEKIND, H. & STEINHAGEN, D. 2016. First outbreak of an infection with infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) in ornamental fish in Germany. *Dis Aquat Organ*, 119, 239-244.
- KHAN, N., ASHRAF, M., MUGHAL, M. S., QURESHI, N. A., KHAN, M. N., RASOOL, F., HAFEEZ-UR-REHMAN, M., NASIR, M., ALI, W. & IQBAL, K. J. 2014. Survival and growth potential of genetically male tilapia (GMT) fry in flow through system under different dietary protein concentrations. *Pakistan Journal of Zoology*, 46.
- KLINGER, R. & FLOYD, R. F. 2002. Introduction to Freshwater Fish Parasites 1. *University of Florida IFAS Extention*.
- KOCH, B. J., HUNGATE, B. A. & PRICE, L. B. 2017. Food-animal production and the spread of antibiotic resistance: the role of ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 15, 309-318.
- KOUASSI, A. E., CISSE, M., KOUSSÈMON, M., OUATTARA, A., GERMAIN & GOURENE. Isolation and Identification of *Aeromonashydrophila* , Pathogen of Farmed Tilapia ( *Oreochromisniloticus* ) in Region Agneby-Tiassa in cÙte d@ Ivoire. 2018.
- KUNTTU, H. M. T., VALTONEN, E. T., SUOMALAINEN, L.-R., VIELMA, J. & JOKINEN, I. E. 2009. The efficacy of two immunostimulants against *Flavobacterium columnare* infection in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 26, 850-857.
- KURITA, J. & NAKAJIMA, K. 2012. Megalocytiviruses. *Viruses*, 4, 521-538.
- LARA-FLORES, M., AGUIRRE-GUZM·N, G., BALAN-ZETINA, S., SONDA-SANTOS, K. & ZAPATA, A. 2014. Identification of *Mycobacterium* Agent Isolated from Tissues of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14, 575-580.
- LEGARIO, F. S., CHORESCA, C. H., TURNBULL, J. F. & CRUMLISH, M. 2020. Isolation and molecular characterization of streptococcal species recovered from clinical infections in farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in the Philippines. *Journal of fish diseases*, 43, 1431-1442.
- LI, M. & WANG, D. 2017. Gene editing nuclease and its application in tilapia. *Science Bulletin*, 62, 165-173.
- LITTLE, D. & HULATA, G. 2000. Strategies for tilapia seed production. *Tilapias: biology and exploitation*. Springer.
- LONGALONG, F. M., EKNATH, A. E. & BENTSEN, H. B. 1999. Response to bi-directional selection for frequency of early maturing females in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 178, 13-25.
- LOZANO, C. 2011. *A quantitative genetic study on the proportion of males in tilapia*.
- MACHIMBIRIKE, V. I., JANSEN, M. D., SENAPIN, S., KHUNRAE, P., RATTANAROJPONG, T. & DONG, H. T. 2019. Viral infections in tilapines: More than just tilapia lake virus. *Aquaculture*, 503, 508-518.
- MACLEAN, N., RAHMAN, M. A., SOHM, F., HWANG, G., IYENGAR, A., AYAD, H., SMITH, A. & FARAHMAND, H. 2002. Transgenic tilapia and the tilapia genome. *Gene*.
- MAHBOUB, H. H. & SHAHEEN, A. A. 2021. Mycological and histopathological identification of potential fish pathogens in Nile tilapia. *Aquaculture*, 530, 735849.
- MAHMOUD, M. M., EL-LAMIE, M., KILANY, O. E. & DESSOUKI, A. 2018. Spirulina (*Arthrospira platensis*) supplementation improves growth performance, feed utilization, immune response, and relieves oxidative stress in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) challenged with *Pseudomonas fluorescens*. *Fish & Shellfish Immunology*, 72, 29Q 300.

- MAHMUD, Z. H., WRIGHT, A. C., MANDAL, S. C., DAI, J., JONES, M. K., HASAN, M., RASHID, M. H., ISLAM, M. S., JOHNSON, J. A., GULIG, P. A., MORRIS, J. G. & ALI, A. 2010. Genetic Characterization of *Vibrio vulnificus* Strains from Tilapia Aquaculture in Bangladesh. *Applied and Environmental Microbiology*, 76, 4890-4895.
- MALT, U. 2018. *Transgene dyr* [Online]. Available: [https://smi.snl.no/transgene\\_dyr](https://smi.snl.no/transgene_dyr) [Accessed 04/11 2020].
- MANDAL, S. C., HASAN, M., RAHMAN, M. S., MANIK, M., MAHMUD, Z. H. & ISLAM, S. 2012. Prevalence and characterization of *vibrio vulnificus* in nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (linnaeus). *Int. j. ecotoxicol. agric. technol.*, 2, 101-112.
- MAPFUMO, B. 2018. Tilapia Trade - Global and Regional Trends.
- MITIKU, M. 2018. A Review on Columnaris disease in freshwater farmed fish. 5.
- MODADUGU, V. G. & ACOSTA, B. 2004. A review of global tilapia farming practices. *Aquac. Asia*, 9.
- MOHAMED, M. F. Effect of Injection Vaccination against *Pseudomonas fluorescens* on Specific and Non-Specific Immune Response of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Using Different Prepared Antigens. 2012.
- MOWI 2020. Salmon Farming Industry Handbook 2020.
- MSD ANIMAL HEALTH, M. 2019. Animal Health Launches AQUAVAC Strep Sa-Si Vaccine Against Streptococcis in Fish in Latin America.
- MUSHTAQ, Z., QAYOOM, U., MIR, I. & MIR, S. 2018. Tilapia lake virus: An emerging viral disease of tilapia industry. *Journal of entomology and zoology studies*, 6, 141-144.
- MUSTAPHA, M. K. & ATOLAGBE, S. D. 2018. Tolerance level of different life stages of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) to low pH and acidified waters. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 79, 1-6.
- MYERS, J. M., PENMAN, D. J., BASAVARAJU, Y., POWELL, S. F., BASOPRASTERKUL, P., RANA, K. J., BROMAGE, N. & MCANDREW, B. J. 1995. Induction of diploid androgenetic and mitotic gynogenetic Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.).
- MÜLLER, F., IVICS, Z., ERDÉLYI, F., PAPP, T., VÁRADI, L., HORVÁTH, L., MACLEAN, N. & ORBÁN, L. 1992. Introducing foreign genes into fish eggs with electroporated sperm as a carrier. *Molecular marine biology and biotechnology*.
- MZULA, A., WAMBURA, P. N., MDEGELA, R. H. & SHIRIMA, G. M. 2019. Current State of Modern Biotechnological-Based-*Aeromonas hydrophila* Vaccines for Aquaculture: A Systematic Review. *BioMed Research International*, 2019, 3768948.
- MÆHLUM, L., HÜGLI, C. & RATIKAINEN, I. I. 2019. *Invaderende arter* [Online]. Available: <https://snl.no/invaderende arter> [Accessed 04/11 2020].
- NIKULI, H. L. 2009. Prevalence and characterization of potential bacterial pathogens in farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and fresh water pond environments in [...] Tanzania. Oslo: H.L.Nikuli.
- NORMAN-LÓPEZ, A. 2009. Competition between Different Farmed and Wild Species: The US Tilapia Market. *Marine Resource Economics*, 24, 237-251, 15.
- NORMAN-LÓPEZ, A. & BJØRNNDAL, T. 2009a. The global market for tilapia - one or several.
- NORMAN-LÓPEZ, A. & BJØRNNDAL, T. 2009b. Is tilapia the same product worldwide or are markets segmented? *Aquaculture Economics & Management*, 13, 138-154.
- PANTOJA MF, W., NEVES R, L., DIAS RD, M., MARINHO GB, R., MONTAGNER, D. & TAVARES-DIAS, M. 2012. Protozoan and metazoan parasites of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in Brazil. *Rev.MVZ Cordoba*, 17, 2812-2819.
- PARK, K. H. & JEONG, H. D. 1996. Enhanced resistance against *Edwardsiella tarda* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*) by administration of protein-bound polysaccharide. *Aquaculture*, 143, 135-143.
- PARK, S. B., AOKI, T. & JUNG, T. S. 2012. Pathogenesis of and strategies for preventing *Edwardsiella tarda* infection in fish. *Veterinary Research*, 43, 67.
- PEARSON, K. 2017. *Tilapia Fish: Benefits and Dangers* [Online]. Available: <https://www.healthline.com/nutrition/tilapia-fish> [Accessed 18/11 2020].
- PEREIRA FIGUEIREDO, H. C., TAVARES, G. C., DORELLA, F. A., CÂMARA ROSA, J. C., CORREIA MARCELINO, S. A. & PIEREZAN, F. 2020. First report of Infectious Spleen and Kidney Necrosis Virus in Nile tilapia in Brazil. *bioRxiv*, 2020.10.08.331991.
- PHUMKHACHORN, P. & RATTANACHAIKUNSOPON, P. 2015. Use of Cassia alata aqueous extract as a bath treatment to control *Pseudomonas anguilliseptica* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Archives of Biological Sciences*, 67, 1165-1172.
- PILLAY, T. V. R. K. M. N. 2005. Aquaculture Principles and Practices. 2 uppl. *Brackwell Publishing Ltd.*

- PIRARAT, N., KOBAYASHI, T., KATAGIRI, T., MAITA, M. & ENDO, M. 2006. Protective effects and mechanisms of a probiotic bacterium *Lactobacillus rhamnosus* against experimental *Edwardsiella tarda* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Vet Immunol Immunopathol*, 113, 339-347.
- POLANCO, J. F., LLORENTE, I. & ODRIEZOLA, M. 2014. *Market, trade flows of frozen tilapia in EU* [Online]. Available: <https://www.aquaculturealliance.org/advocate/market-trade-flows-of-frozen-tilapia-in-e-u> [Accessed 30/10 2020].
- PONZONI, R. W., KHAW, H. L. & YEE, H. Y. 2010. GIFT: the story since leaving ICLARM (now known as the WorldFish Center): socioeconomic, access and benefit sharing and dissemination aspects.
- PONZONI, R. W., NGUYEN, M. H. & KHAW, H. L. 2007. Investment appraisal of genetic improvement programs in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*.
- PONZONI, R. W., NGUYEN, N. H., KHAW, H. L., HAMZAH, A., BAKAR, K. R. A. & YEE, H. Y. 2011. Genetic improvement of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) with special reference to the work conducted by the WorldFish Center with the GIFT strain. *Reviews in Aquaculture*, 3, 27-41.
- PRIDGEON, J. W. & KLESIUS, P. H. 2011a. Development and efficacy of a novobiocin-resistant *Streptococcus iniae* as a novel vaccine in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Vaccine*, 29, 5986-5993.
- PRIDGEON, J. W. & KLESIUS, P. H. 2011b. Development and efficacy of novobiocin and rifampicin-resistant *Aeromonas hydrophila* as novel vaccines in channel catfish and Nile tilapia. *Vaccine*, 29, 7896-904.
- RAMÍREZ-PAREDEZ, J. G., PALEY, R. K., HUNT, W., FEIST, S. W., STONE, D. M., FIELD, T. R., HAYDON, D. J., ZIDDAH, P. A., NKANSA, M., GUILDER, J., GRAY, J., DUODU, S., PECKU, E. K., AWUNI, J. A., WALLIS, T. S. & VERNER -JEFFREYS, D. W. 2020. First detection of Infectious Spleen and kidney Necrosis Virus (ISKNV) associated with massive mortalities in farmed tilapia in Africa. *Transboundary and emerging diseases*.
- REED, P., FRANCIS-FLOYD, R., KLINGER, R. & PETTY, D. 2009. Monogenean Parasites of Fish. *University of Florida IFAS Extension*.
- RIDHA, M. T. & CRUZ, E. M. 2000. Effect of light intensity and photoperiod on Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. seed production. *Aquaculture research*, 31, 609-617.
- ROBERTSON, L. 2017. Plathyhelminthes – flatorm Monogenea og Trematoda (7,8).
- RODRIGUES, M. V., FALCONE-DIAS, M. F., FRANCISCO, C. J., DAVID, G. S., JOSÉ DA SILVA, R. & ARAUJO JUNIOR, J. P. 2018. Occurrence of *Edwardsiella tarda* in Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* from Brasilian Aquaculture *Edwardsiella tarda* in Nile Tilapia
- ROJAS, N. E. T. & ROCHA, O. 2004. Influência da alcalinidade da água sobre o crescimento de larvas de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758 Perciformes, Cichlidae) - DOI: 10.4025/actascibiolsci.v26i2.1630 Water alkalinity influence on the growth of Nile Tilapia larvae (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758 Perciformes, Cichlidae) - DOI: 10.4025/actascibiolsci.v26i2.1630. *Acta scientiarum. Biological sciences*, 26, 163-167.
- SENAPIN, S., SHYAM, K. U., MEEMETTA, W., RATTANAROJPONG, T. & DONG, H. T. 2018. Inapparent infection cases of tilapia lake virus (TiLV) in farmed tilapia. *Aquaculture*, 487, 51-55.
- SHERIF, A. H., GOUDA, M. Y., AL-SOKARY, E. T. & ELSEIFY, M. M. 2020. *Lactobacillus plantarum* enhances immunity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* challenged with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture Research*, n/a.
- SHOEMAKER, C. A., LAFRENTZ, B. R. & KLESIUS, P. H. 2012. Bivalent vaccination of sex reversed hybrid tilapia against *Streptococcus iniae* and *Vibrio vulnificus*. *Aquaculture*, 354-355, 45-49.
- SHOEMAKER, C. A., VANDENBERG, G. W., DÉSORMEAUX, A., KLESIUS, P. H. & EVANS, J. J. 2006. Efficacy of a *Streptococcus iniae* modified bacterin delivered using Oralject™ technology in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 255, 151-156.
- SIFA, L., CHENGHONG, L., DEY, M., GAGALAC, F. & DUNHAM, R. 2002. Cold tolerance of three strains of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, in China. *Aquaculture*, 213, 123-129.
- SILVA, S. S. D., SUBASINGHE, R. P., BARTLEY, D. M. & LOWTHER, A. 2004. Tilapias as alien aquatics in Asia and the Pacific: a review.
- SIN, F. Y. T. 1997. Transgenic fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7, 417-441.
- SRIYASAK, P., CHITMANAT, C., WHANGCHAI, N., PROMYIA, J. & LEBEL, L. 2015. Effect of water de-stratification on dissolved oxygen and ammonia in tilapia ponds in Northern Thailand. *International Aquatic Research*, 7, 287-299.
- STENSETH, N. C. 2009. *Heterosis* [Online]. Available: <https://snl.no/heterosis> [Accessed].

- SUBRAMANIAM, K., GOTESMAN, M., SMITH, C. E., STECKLER, N. K., KELLEY, K. L., GROFF, J. M. & WALTZEK, T. B. 2016. Megalocytivirus infection in cultured Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Dis Aquat Organ*, 119, 253-258.
- SUEBSING, R., PRADEEP, P. J., JITRAKORN, S., SIRITHAMMAJAK, S., KAMPEERA, J., TURNER, W. A., SAKSMERPROME, V., WITHYACHUMNARNKUL, B. & KIATPATHOMCHAI, W. 2016. Detection of natural infection of infectious spleen and kidney necrosis virus in farmed tilapia by hydroxynaphthol blue-loop-mediated isothermal amplification assay. *J Appl Microbiol*, 121, 55-67.
- SUKENDA, S., RAHMAN, R., NISAA, K., HIDAYATULLAH, D. & VINASYIAM, A. 2018. The efficacy of *Streptococcus agalactiae* vaccine preparations, administered to tilapia broodstock, in preventing streptococcosis in their offspring, via transfer of maternal immunity. *Aquaculture international*, 26, 785-798.
- SUN, Y.-L., JIANG, D.-N., ZENG, S., HU, C.-J., YE, K., YANG, C., YANG, S.-J., LI, M.-H. & WANG, D.-S. 2014. Screening and characterization of sex-linked DNA markers and marker-assisted selection in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 433.
- SURACHETPONG, W., ROY, S. R. K. & NICHOLSON, P. 2020. Tilapia lake virus: The story so far. *Journal of fish diseases*, 43, 1115-1132.
- TAVARES, G. C., COSTA, F. A. D. A., SANTOS, R. R. D., BARONY, G. M., LEAL, C. A. G. & FIGUEIREDO, H. C. P. 2016. Nonlethal sampling methods for diagnosis of *Streptococcus agalactiae* infection in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, 454, 237-242.
- TEICHERT-CODDINGTON, D. & GREEN, B. W. 1993. Tilapia yield improvement through maintenance of minimal oxygen concentrations in experimental grow-out ponds in Honduras. *Aquaculture*, 118, 63-71.
- THE FISH SITE. 2005. *Pond Culture of Tilapia* [Online]. Available: <https://thefishsite.com/articles/pond-culture-of-tilapia> [Accessed 04/11 2020].
- THE FISH SITE, T. F. S. 2006. Streptococcus in Tilapia.
- THE FISH SITE, T. F. S. 2014. Antibiotics in Aquaculture are they needed?
- TOLEDO, J. D., ACOSTA, B. O., EGUIA, M. R. R., EGUIA, R. V. & ISRAEL, D. C. 2008. Sustainable tilapia farming: a challenge to rural development. *Fish for the People*, 6, 18-25.
- TONELLI, F. M. P., LACERDA, S. M. D. S. N., PROCÓPIO, M. S., LEMOS, B. L. S., DE FRANÇA, L. R. & RESENDE, R. R. 2017. Gene delivery to Nile tilapia cells for transgenesis and the role of PI3K-c2 $\alpha$  in angiogenesis. *Scientific reports*, 7, 44317.
- TOWERS, L. 2005. *Farming tilapia: life history and biology* [Online]. Available: <https://thefishsite.com/articles/tilapia-life-history-and-biology> [Accessed 21/10 2020].
- TOWERS, L. 2014. *A Guide to Farming Tilapia: On-Growing Techniques* [Online]. Available: <https://thefishsite.com/articles/a-guide-to-farming-tilapia-ongrowing-techniques> [Accessed 04/11 2020].
- TRONDSEN, J. & EGELAND, E. S. 2020. *Alger – Store norske leksikon* [Online]. Available: <https://snl.no/alger> [Accessed 03/11 2020].
- UNIVERSITETET I OSLO. 2011a. *Autotrof* [Online]. Available: <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/a/autotrof.html> [Accessed 03/11 2020].
- UNIVERSITETET I OSLO. 2011b. *Heterotrof* [Online]. Available: <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/h/heterotrof.html> [Accessed 03/11 2020].
- VALLADÃO, G. M. R., ALVES, L. O. & PILARSKI, F. 2016. Trichodiniasis in Nile tilapia hatcheries: Diagnosis, parasite:host-stage relationship and treatment. *Aquaculture*, 451, 444-450.
- VAN DAM, A., BEVERIDGE, M., AZIM, E. & VERDEGEM, M. 2002. The potential of fish production based on periphyton. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 12, 1-31.
- VERAS, G. C., MURGAS, L. D. S., ROSA, P. V., ZANGERONIMO, M. G., FERREIRA, M. S. D. S. & LEON, J. A. S.-D. 2013. Effect of photoperiod on locomotor activity, growth, feed efficiency and gonadal development of Nile tilapia. *R. Bras. Zootec*, 42, 844-849.
- VIBERG, K. 2009. *Plankton – Store norske leksikon* [Online]. Available: <https://snl.no/plankton> [Accessed 11/03 2020].
- WAMALA, S. P., MUGIMBA, K. K., MUTOLOKI, S., EVENSEN, Ø., MDEGELA, R., BYARUGABA, D. K. & SØRUM, H. 2018. Occurrence and antibiotic susceptibility of fish bacteria isolated from *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia) and *Clarias gariepinus* (African catfish) in Uganda. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 21, 6.

- WANG, Q., FU, T., LI, X., LUO, Q., HUANG, J., SUN, Y. & WANG, X. 2019. Cross-immunity in Nile tilapia vaccinated with *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus iniae* vaccines. *Fish & shellfish immunology*.
- WANG, Y. Q., LÜ, L., WENG, S. P., HUANG, J. N., CHAN, S. M. & HE, J. G. 2006. Molecular epidemiology and phylogenetic analysis of a marine fish infectious spleen and kidney necrosis virus-like (ISKNV-like) virus. *Arch Virol*, 152, 763-773.
- WANGEAD, C., GEATER, A. & TANSAKUL, R. Effects of acid water on survival and growth rate of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 1988. WorldFish, 433.
- WATANABE, W. O., KUO, C.-M. & HUANG, M.-C. 1985. The ontogeny of salinity tolerance in the tilapias *Oreochromis aureus*, *O. niloticus*, and an *O. mossambicus* × *O. niloticus* hybrid, spawned and reared in freshwater. *Aquaculture*, 47, 353-367.
- WENLONG, C., LEONARDO DE LA, F. & COVADONGA, R. A. 2013. Biofilm Formation by the Fish Pathogen *Flavobacterium columnare*: Development and Parameters Affecting Surface Attachment. *Appl Environ Microbiol*, 79, 5633-5642.
- WHO, W. H. O. 2020. Antibiotic resistance.
- WIKIPEDIA. 2016. Segmentering (marked) [Online]. Available: [https://no.wikipedia.org/w/index.php?title=Segmentering\\_\(marked\)&oldid=16392390](https://no.wikipedia.org/w/index.php?title=Segmentering_(marked)&oldid=16392390) [Accessed 16/11 2020].
- WIKIPEDIA. 2018. Raceway (aquaculture) - Wikipedia [Online]. Available: [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Raceway\\_\(aquaculture\)&oldid=857661185](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Raceway_(aquaculture)&oldid=857661185) [Accessed 03/11 2020].
- WIKIPEDIA. 2020a. Anabaena - Wikipedia [Online]. Available: <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Anabaena&oldid=978488400> [Accessed].
- WIKIPEDIA. 2020b. Filterspiser – Wikipedia [Online]. Available: <https://no.wikipedia.org/w/index.php?title=Filterspiser&oldid=20687819> [Accessed 21/10 2020].
- WITHYACHUMNARNKUL, B., PALANG, I., REUNGSRI, J., SIRITHAMMAJAK, S., JITRAKORN, S., KIATPATHOMCHAI, W., SAKSMERPROME, V., PONGTIPPATEE, P. & WITHYACHUMNARNKUL, B. 2017. Nile tilapia reared under full-strength seawater: Hemato-immunological changes and susceptibility to pathogens. *Aquaculture*, 480, 42-50.
- WORLDFISH. 2016. The GIFT that keeps giving [Online]. Available: <https://www.worldfishcenter.org/pages/gift/> [Accessed 16/11/2020 2020].
- WU, T.-S., CHIU, C.-H., YANG, C.-H., LEU, H.-S., HUANG, C.-T., CHEN, Y.-C., WU, T.-L., CHANG, P.-Y., SU, L.-H., KUO, A.-J., CHIA, J.-H., LU, C.-C. & LAI, H.-C. 2012. Fish tank granuloma caused by *Mycobacterium marinum*. *PloS one*, 7, e41296-e41296.
- XU, D.-H., KLESIUS, P. H. & SHOEMAKER, C. A. 2008. Protective immunity of Nile tilapia against *Ichthyophthirius multifiliis* post-immunization with live theronts and sonicated trophonts. *Fish & Shellfish Immunology*, 25, 124-127.
- XU, D.-H., SHOEMAKER, C. A. & LAFRENTZ, B. R. 2014. Enhanced susceptibility of hybrid tilapia to *Flavobacterium columnare* after parasitism by *Ichthyophthirius multifiliis*. *Aquaculture*, 430, 44-49.
- YACOUT, D. M. M., SOLIMAN, N. F. & YACOUT, M. M. 2016. Comparative life cycle assessment (LCA) of Tilapia in two production systems: semi-intensive and intensive. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 21, 806-819.
- YANBO, W., WENJU, Z., WEIFEN, L. & ZIRONG, X. 2006. Acute toxicity of nitrite on tilapia (*Oreochromis niloticus*) at different external chloride concentrations. *Fish Physiology and Biochemistry*, 32, 49.
- YI, Y., LIN, C. K. & DIANA, J. S. 2003. Techniques to mitigate clay turbidity problems in fertilized earthen fish ponds. *Aquacultural engineering*, 27, 39-51.
- YILDIZ, H. Y., KÖKSAL, G., BORAZAN, G. & BENLİ, Ç. K. 2006. Nitrite-induced methemoglobinemia in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of applied ichthyology*, 22, 427-426.
- YOUNES, A., FARES, M., GRAAF, A. & MOHAMED, L. 2016. Isolation of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio vulnificus* Strains from Cultured *Oreochromis niloticus* Around Qarun Lake, Egypt. . *Global Veterinaria*, 16. 01-05.
- YOUNES, A. M., MOHAMED, L. A., MF, E. & GAAFAR, A. Characterization and Pathogen Challenge of *Pseudomonas* Species from *Oreochromis niloticus* in Egypt. 2015.
- YUE, G. H., LIN, H. & LI, J. 2016. Tilapia is the Fish for Next-Generation Aquaculture. *International Journal of Marine Science and Ocean Technology*, 3, 11-13.

- ZAGO, A. C., FRANCESCHINI, L., GARCIA, F., SCHALCH, S. H. C., GOZI, K. S. & SILVA, R. J. D. 2014. Ectoparasites of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in cage farming in a hydroelectric reservoir in Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*, 23, 171-178.
- ZAHRAN, E., HAFEZ, E. E., MOHD ALTAF HOSSAIN, F., ELHADIDY, M. & SHAHEEN, A. A. 2017. Saprolegniosis in Nile Tilapia: Identification, Molecular Characterization, and Phylogenetic Analysis of Two Novel Pathogenic Saprolegnia Strains. *J Aquat Anim Health*, 29, 43-49.
- ZAHRAN, E. & RISHA, E. 2013. Protective role of adjuvant and potassium permanganate on oxidative stress response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) challenged with *Saprolegnia ferax*. *SpringerPlus*, 2, 94-94.
- ZAJDBAND, A. 2012. Monterey Bay Aquarium Seafood Watch Farmed Tilapia (*Oreochromis* spp.) United States Closed recirculating systems. Available: [https://www.seafoodwatch.org/-/m/swf/pdf/reports/t/mba\\_seafoodwatch\\_tilapiausreport.pdf](https://www.seafoodwatch.org/-/m/swf/pdf/reports/t/mba_seafoodwatch_tilapiausreport.pdf) [Accessed 2020/11/02].
- ZAKI, M., EISSL, A. & SAEID, S. Assessment of the Immune Status in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Experimentally Challenged with Toxigenic / Septicemic Bacteria During Treatment Trial with Florfenicol and Enrofloxacin. 2011.



Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
67 23 00 00  
[www.nmbu.no](http://www.nmbu.no)