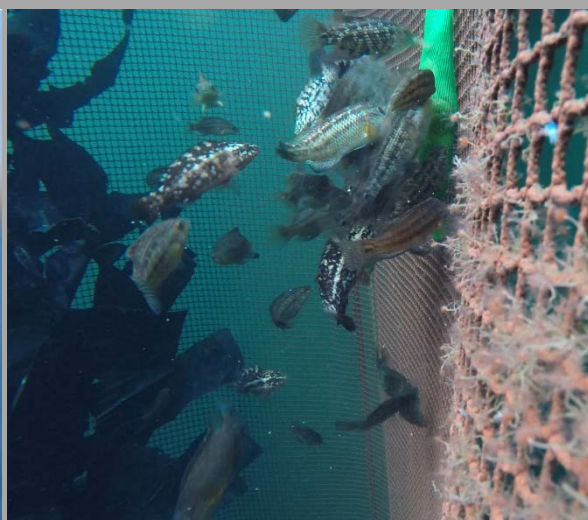


Program rensefisk: Adferd og artssamspill i laksemerder

Sluttrapport FHF-prosjekt 900978

- Del I. Merdforsøk
- Del II. Rensefiskers toleranse for ferskvanns- og hydrogenperoksidbehandling

Anne Berit Skiftesvik, Reidun Bjelland, Caroline Durif, Lene Moltumyr, Ruth Berit Hjellum og Kim Tallaksen Halvorsen



Prosjektrapport

Rapport:
RAPPORT FRA HAVFORSKNINGEN

Nr. – År:
33–2018

Dato:
04.09.2018

Tittel:
Program rensefisk: Adferd og artssamspill i laksemerder

Cleanerfish program: Behaviour and species interactions in the seacages.
Final FHF report project 900978

Forfattere:
Anne Berit Skiftesvik, Reidun Bjelland, Caroline Durif, Lene Moltumyr, Ruth Berit Hjellum og Kim Tallaksen Halvorsen

Distribusjon: Åpen

Havforskningsprosjektnr.:
14455

Oppdragsgiver(e): FHF

Oppdragsgivers referanse:
Prosjekt 900978

Program: Akvakultur

Forskningsgruppe:
Marin økosystemakustikk

Antall sider totalt: 61

Sammendrag (norsk):

Rensefisk er lakseoppdretternes viktigste, ikke-medikamentelle hjelpemiddel i kampen mot lakselus. Det brukes ofte flere arter rensefisk i kombinasjon, men det er lite kjent om adferd og artssamspill kan påvirke effekten av lusebeiting i merd. I dette forsøket ble kombinasjoner av rensefiskartene berggylt, bergnebb, grønnngylt og rognkjeks testet i kombinasjoner. Adferd ble undersøkt ved bruk av kamera og antenner til posisjonsregistrering for PIT-merket rensefisk. Lus ble talt i alle merder ukentlig. Forsøket ble avsluttet etter tre uker pga. sykdomsutbrudd på laksen, men vi kunne likevel se tydelig effekt av rensefisken på antall lus sammenlignet med kontrollgrupper. Kombinasjoner med berggylt + bergnebb og berggylt + grønnngylt var mest effektive for å redusere lusetallene, men leppefiskene fungerte også bra når de ikke var i kombinasjon med andre. Rognkjeks gav mindre effekt i kombinasjoner med leppefisk og fungerte dårlig når den ble brukt som eneste rensefiskarten. Dette kan relateres til at vi observerte tydelige forskjeller i dybdeatferd; leppefiskene benyttet et større dybdespenn, mens rognkjeks ble hovedsakelig registrert i overflaten. Dette kan skyldes høy vanntemperatur og mye maneter i sjøen som rognkjeks ble observert beitende på. Det er derfor sannsynlig at rognkjeks har en annen dybdepreferanse og bedre effekt på lusetall under andre miljøbetingelser. Selv om forsøkene demonstrerer at kombinasjoner av ulike leppefiskarter tyder på å gi en god effekt og fungerer fint sammen, er det fortsatt behov for bedre forståelse av sesongmessige variasjoner i adferd og lusebeiting for å få en optimal utnyttelse av rensefisk og en rett kombinasjon av artene gjennom hele året. AGD-utbrudd på laksen i merdforsøkene gav utfordringer angående rensefiskenes toleranse for de vanlige behandlingene som blir brukt mot AGD hos laks, ferskvann og hydrogenperoksid. Hovedfunnene i forsøkene med de to behandlingsmetodene på rognkjeks, berggylt, grønnngylt og bergnebb var at verken berggylt, bergnebb eller grønnngylt kan settes direkte i ferskvann, men de tålte 2 timers opphold i tilnærmet ferskvann ved gradvis tilvenning til ferskvann. Alle de undersøkte artene klarte 20 minutters opphold i hydrogenperoksidløsning (1500 ppm).

Summary (English):

Cleanerfish used in salmon farming are considered the most important non-pharmaceutical tool to reduce salmon lice infestation. Several species of cleanerfish are often used in combination, but there is little knowledge about how the behaviour and interaction between species will affect their efficiency in reducing the number of salmon lice on the fish. In this experiment, we tested combinations of the cleanerfish species ballan wrasse, goldsinny, cormorant and lumpfish. Behaviour of cleanerfish was observed using GoPro video cameras, and the position of PIT-tagged cleanerfish was registered using an array of antennae. Each week, lice were counted on salmon from every netpen. Because of a disease outbreak in the salmon, the trial lasted only three weeks. Nonetheless, there was a detectable effect of the cleanerfish on the number of salmon lice compared to controls. Combinations of different wrasse species or wrasse in isolation gave the best effect, while lumpfish were less effective in reducing lice numbers. This could be explained with lumpfish mostly staying in shallow depths, whereas wrasses were more frequently observed in deeper positions. This could be due to environmental conditions during the experiment, with high temperature and densities of jellyfish which the lumpfish was observed to feed on. Thus, there is a need for future studies investigating seasonal patterns in behaviour and lice feeding for the different species of cleaner fish. Treatment of salmon in an AGD outbreaks on the salmon used in the sea cage experiment become challenging for the cleanerfish. AGD is usually treated with freshwater or hydrogenperoxid. The main findings in the experiments with the two treatments on lumpfish, ballan wrasse, cormorant and goldsinny were that neither ballan wrasse, cormorant nor goldsinny tolerate direct transfer to freshwater, but they tolerated 2 hours in freshwater if the salinity gradually were reduced first. All the examined cleanerfish tolerated a 20 minutes stay in hydrogen peroxide solution (1500 ppm).

Geir Lasse Taranger
forskningsdirektør

Terje Svåsand
programleder

Innhold

1	Del I: Merdforsøk – Innledning	5
2	Del I: Materiale og metoder.....	6
2.1	Prosjektgjennomføring	6
2.2	Forsøksoppsett	6
2.3	Lusetelling	6
2.4	Adferdsobservasjoner av rensefisk i merd med video og PIT-antennar	6
2.5	Dataanalyse	10
3	Del I: Resultat	11
3.1	Lusetall.....	11
3.2	Filmobservasjoner.....	14
3.3	Rensefisken plassering gjennom døgnet ifølge PIT-registreringer.....	16
3.4	Dødelighet på laks og rensefisk	20
4	Del I: Diskusjon	21
5	Del II: Rensefiskers toleranse for ferskvanns- og hydrogenperoksidbehandlinger mot amøbisk gjellesykdom (AGD) – Innledning.....	22
6	Del II: Materiale og metoder.....	24
6.1	Gjennomføring	26
6.1.1	Direkte ferskvann.....	26
6.1.2	Gradvis ferskvann.....	27
6.1.3	Hydrogenperoksid.....	27
6.2	Måling av fysiske og kjemiske vannparametre.....	30
6.3	Filming av adferd.....	30
6.4	Fysiologisk prøvetaking	30
6.4.1	Bedøving.....	30
6.4.2	Blodprøvetaking.....	31
6.4.3	Bedring og overvåking	31
7	Del II: Resultater	32
7.1	Pilotforsøk med direkte ferskvann	32
7.2	Berggytt og gradvis ferskvann	33
7.2.1	Under behandlingen	33
7.2.2	Blodparametre	33
7.2.3	Etter behandlingen.....	34
7.3	Berggytt og hydrogenperoksid	34
7.3.1	Under behandlingen	34
7.3.2	Blodparametre	34
7.3.3	Etter behandlingen.....	34
7.4	Bergnebb og gradvis ferskvann	35
7.4.1	Under behandlingen	35
7.4.2	Blodparametre	35
7.4.3	Etter behandlingen.....	35
7.5	Bergnebb og hydrogenperoksid	36
7.5.1	Under behandlingen	36
7.5.2	Blodparametre	36
7.5.3	Etter behandlingen.....	37
7.6	Grønnngylte og gradvis ferskvann.....	37
7.6.1	Under behandlingen	37
7.6.2	Blodparametre	38
7.6.3	Etter behandlingen.....	38

7.7	Grønnfylte og hydrogenperoksid	39
7.7.1	Under behandlingen	39
7.7.2	Blodparametre	39
7.7.3	Etter behandlingen.....	39
7.8	Rognkjeks og direkte ferskvann	40
7.8.1	Under behandlingen	40
7.8.2	Blodparametre	40
7.8.3	Etter behandlingen.....	40
7.9	Rognkjeks og hydrogenperoksid	41
7.9.1	Under behandlingen	41
7.9.2	Blodparametre	41
7.9.3	Etter behandlingen.....	42
8	Del II: Diskusjon	43
8.1	Pilotforsøk	43
8.2	Direkte ferskvann	43
8.2.1	Adferd i behandlingskar	43
8.2.2	Blodparametre	44
8.2.3	Adferd og appetitt i bedringskar.....	44
8.2.4	Dødelighet	45
8.3	Gradvis ferskvann	45
8.3.1	Adferd i behandlingskar	45
8.3.2	Blodparametre	45
8.3.3	Adferd og appetitt i bedringskar.....	46
8.3.4	Dødelighet	46
8.4	Hydrogenperoksid	47
8.4.1	Adferd i behandlingskar	47
8.4.2	Blodparametre	48
8.4.3	Adferd og appetitt i bedringskar.....	49
8.4.4	Dødelighet	49
9	Del II: Konklusjon	51
10	Referanser	52
11	Appendix.....	59

1 Del I: Merdforsøk – Innledning

Rensefisk er et viktig ikke-medikamentelt virkemiddel i kampen mot lakselus. Både villfanget leppefisk og oppdrettet berggylt og rognkjeks benyttes som rensefisk. Ofte brukes flere arter i kombinasjon, men det er liten kunnskap om de ulike artenes adferd i merden og interaksjoner mellom artene. Leppefiskartene (berggylt, grønngylt, grasgylt og bergnebb) lever hele livet på hardbunn på relativt grunt vann i kystsonen, og har relativ stor nisje og habitatoverlapp. Leppefisk er naturlig territoriell, spesielt i gyteperioden og det er observert både inter- og intraspesifikk aggresjon mellom artene i naturen (Potts 1974). I naturen varierer artssammensetningen leppefisk med substrat, dyp, taredekke og eksponeringsgrad (Skog et al. 1994; Skiftesvik et al. 2014). Rognkjeks lever store deler av livet pelagisk, selv om den i tidlige stadier gjerne er mer knyttet til nære kystområder, men fanges sjelden sammen med leppefisk. Det er sannsynlig at noen av forskjellene vi ser mellom artene i naturen, følger dem inn i laksemerdene. For å få optimal effekt av rensefisk er det derfor nødvendig å kartlegge de ulike artenes adferd, interaksjoner, dybdepreferanse og effektivitet som lusebeitere i en oppdrettssituasjon. Forsøket ble satt opp med formål for å undersøke hvordan kombinasjoner av de ulike rensefiskartene påvirket lusetall på laksen. Hver av artene ble også brukt alene for å få en basislinje for hvordan hver enkelt art fungerte. Interaksjoner, adferd og dybdepreferanse ble registrert i alle behandlingene.



2 Del I: Materiale og metoder

2.1 Prosjektgjennomføring

Forsøket startet 3.september og ble avsluttet 30.september 2014. Et utbrudd av AGD (amøbegjellesykdom - *Paramoeba perurans*) forkortet den planlagte forsøksperioden med tre uker. Temperatur målt på 5 m dyp var i snitt 15,9 °C og saltholdighet var på 32,2 ‰. Været i forsøksperioden var preget av påfallende pent vær, med sol og vindstille. Siktedyp var omtrent 10 m i forsøksperioden, målt med secciskive.

2.2 Forsøksoppsett

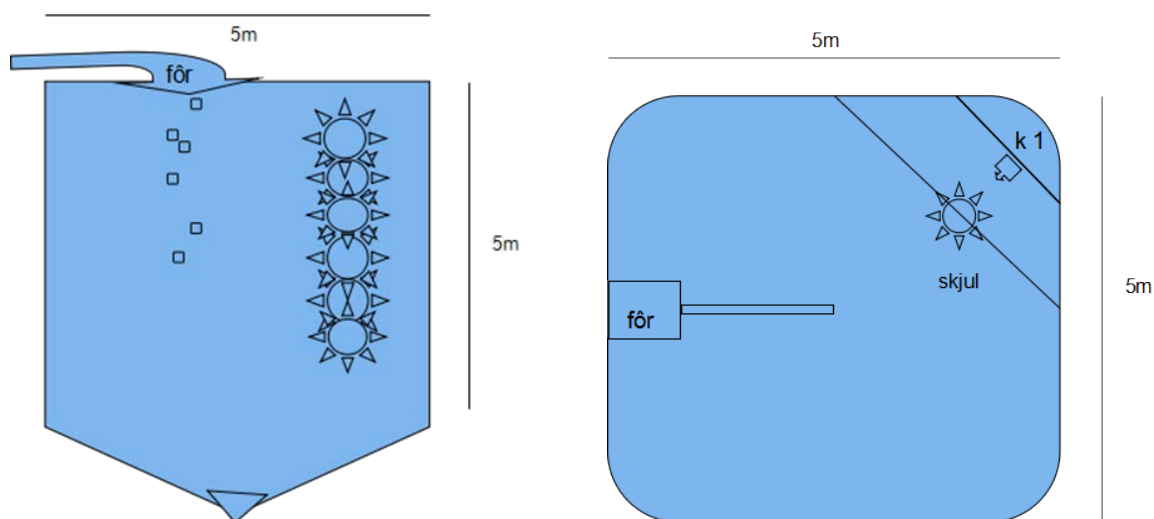
Hver forsøksmerd var på 125 m³ (5 x 5 x 5 meter) med dødfiskhåv og impregnert not, maskestørrelse 30 mm (målt diagonalt). Hver merd hadde et skjul for rensefisk: En 4 meter lang remse med kunstig tare av plast (OK Marine) hang vertikalt, med toppen festet 20 til 40 cm under overflaten, og stabilisert med et lodd i nederste delen. Skjulet hang mellom sentrum av merden og et av hjørnene i nota for å unngå å komme for nær lakseføret fra automaten, og samtidig gi plass for laksen til å svømme rundt (Figur 1). All rensefisk brukt i forsøket ble lengdemålt, veid og merket med PIT (Figur 2), og 20 laks fra utgangsgruppa ble også lengdemålt og veid (Tabell 1). For å minimalisere feilkilder med ulike forhold innad i anlegget, ble forsøket utført med tre replikater per behandling, og fordelingen av disse ble spredd rundt i anlegget (Figur 3).

2.3 Lusetelling

Før fordeling til forsøksmerkene gikk all laksen i en 12 x 12 m merd hvor de ble naturlig infisert med lakselus. Første lusetelling ble utført 3.september (etter fordeling av laksen og dagen før rensefisken ble satt ut), og dette markerte starten på forsøket. Ved lusetelling ble noten tørket opp og 10 laks fra hver merd (2%) ble håvet og bedøvet med MS222. Det ble talt lus ukentlig i de 33 merkene totalt 4 ganger i løpet av perioden (3-25 september). Etter denne datoen tiltok AGD utbruddet, og det var ikke forsvarlig å håndtere laksen i forbindelse med lusetelling. Lus ble registrert i de 3 kategoriene Fastsittende lus med stadiene chalimus 1 og 2, Bevegelige lus med stadiene preadult 1, preadult 2 og voksne hannlus og Voksne hunnlus.

2.4 Adferdsobservasjoner av rensefisk i merd med video og PIT-antenn

Adferd på rensefisk ble observert ved bruk av kamera og posisjonsregistrering ved bruk av PIT merkede rensefisk og antenner. Filming ble kun gjort på dagtid (Tabell 2), mens posisjonsregistrering ble utført over lengre perioder og gav også informasjon om døgnvariasjoner i aktivitetsnivå (Tabell 3). Det ble kun filmet i merder med kombinasjon av to arter rensefisk, mens det ble utført noen runder med posisjonsregistrering også i merder med kun en art rensefisk. Planlagt mengde adferdsobservasjoner ble redusert i forhold til opprinnelig plan fordi forsøket måtte avslutte tre uker tidligere (grunnet AGD utbrudd på laksen).



Figur 1: Forsøksmerd sett fra siden (til venstre). Merd med skjul og kamerastativ i hjørnet, sett ovenfra (til høyre). Fôringautomat for laks til venstre. Vertikalt skjul (plasttare) til høyre. Dødfiskhåv i bunn.

Undervannskamera (GoPro) ble brukt for å dokumentere rensefiskadferd i tre ulike dyp av en merd samtidig. Kamera ble montert på et flyttbart aluminiumsstativ på henholdsvis 0.5 m, 2 m og 4 m dyp. Stativet ble hengt i hjørnet nærmest skjulet slik at kamera filmet rett mot dette, fra en avstand på 1,30 meter (Figur 3). Det ble filmet i 9 merder, der alle 6 kombinasjoner av rensefiskarter ble filmet kontinuerlig i minimum 2 timer. Filmene er analysert for:

- Lusespising på laks
- Observasjoner av rensefisk fritt svømmende i merden
- Observasjoner av rensefisk i skjulet
- Aggresjon/ territoriell adferd
- Andre typer adferd
- Laksen: Rykk som kan tyde på at rensefisk napper borti skinnet?
- Generelt inntrykk av bildet i merden

For registrering av rensefiskens plassering i merden gjennom døgnet ble det benyttet et spesialtilpasset antennesystem levert av TracID. Fire ringantenner (diameter 0,5 meter) ble montert med 1 meter avstand mellom hver ring. Riggen ble senket ned over skjulet (Figur 5 og Figur 6). Den øverste antennen hang 0,5 meter under overflaten. Antenneriggen stod ute i merden 1-3 døgn, og all rensefisk som passerte i nærheten av en ring ble kontinuerlig registrert (Tabell 3). Vi fikk ikke registrert alle kombinasjoner som var planlagt da forsøksperioden ble halvert. Kun når fisk er i nærheten av skjulet vil posisjonen bli registrert, mens aktivitet som foregår utenfor skjulet (svømming langs merdkanten eller fritt i vannmassene) vil ikke bli registrert med denne metoden. For arter som oppholder seg lite i skjulet vil det da bli færre registreringer uten at det trenger bety at disse er mindre aktive. Antennen registrer hver gang et merke opptrer innenfor deteksjonsradiusen. Når et individ oppholder seg rundt antennen over en tidsperiode vil dette bli registrert mange ganger. Siden vi var interessert i hvor stor andel av fisken som oppholdt seg på ulike dyp gjennom døgnet, vil mange observasjoner av samme individ på samme antenne maskere trender. Vi regnet derfor hvert individs mediandyp per time (det dypet de oftest ble registrert på i en time) og brukte dette estimatet i videre analyser på dybdefordeling og aktivitet.



Figur 2: Merking av rognkjeks med manuell innskyving av PIT-merke med kanylen. All rensefisk i forsøket ble merket med PIT merker.

Tabell 1: Antall, vekt og lengde for fisk brukt i forsøket med rensefisk og laks på Havforskningsinstituttet, Austevoll forskningsstasjon 2014. Et utvalg på 20 laks ble veid og målt før fordeling i forsøksmerdene. Alle rensefiskene ble veid og målt før utsett.

	Antall fisk brukt i forsøket	Snittvekt (g)	Snittlengde (cm)
Laks	16500	435	35
Rognkjeks (oppdrett)	180	28	8,5
Bergnebb (vill)	180	26	12
Berggylt (oppdrett)	180	37	13
Grønnngylt (vill)	180	30	12,5



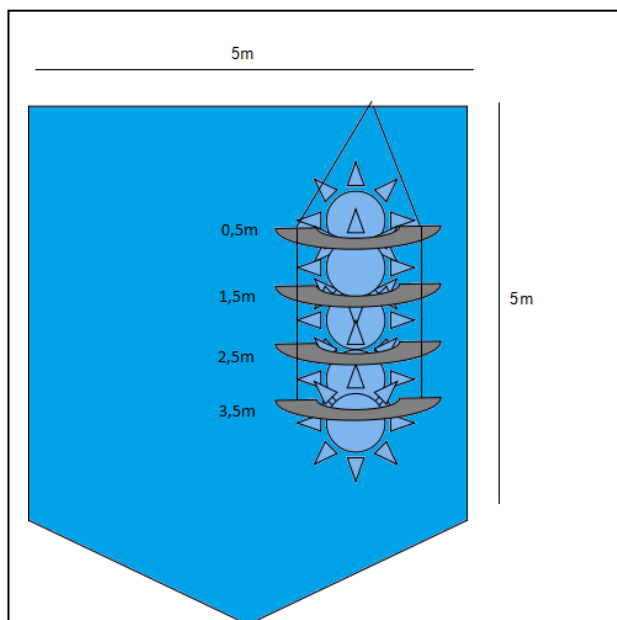
Figur 3: Laks og rensefisk ble fordelt i 33 merder, med tre replikater per behandling og totalt 10 kombinasjoner av rensefisk. Tre merder hadde kun laks og fungerte som kontrollgrupper. Det var 510 laks og 24 rensefisk i hver merd (12 av hver art ved kombinasjoner). Berggylt (BG), bergnebb (BN), grønngylt (GG), rognkjeks (RK).

2.5 Dataanalyse

Signifikante forskjeller i lusetall mellom behandlingene i hver av de fire ukene ble testet ved generaliserte lineære modeller (glm). Her ble antall preadulte og voksne hunnlus slått sammen og brukt som responsvariabel, som var de lusestadiene vi forventet effekt av rensefisk på. Lus per laks ble modellert med negativ binomial fordeling, da poisson fordeling viste seg å bli overdispersert (overfordelt) ved å sammenlikne residual deviance med antall frihetsgrader (Zuur et al. 2009). En post-hoc test ble bruk for å gjøre parvise sammenlikninger av effekten mellom de ulike behandlingene og kontroll ved hjelp av R-pakken lsmeans.



Figur 4: Skjul med antenne. Fire ringantenner (0.5, 1.5, 2.5 og 3.5 m) tredd ned over et skjul.



Figur 5: Skjul med antenne. Fire ringantenner (0.5, 1.5, 2.5

3 Del I: Resultat

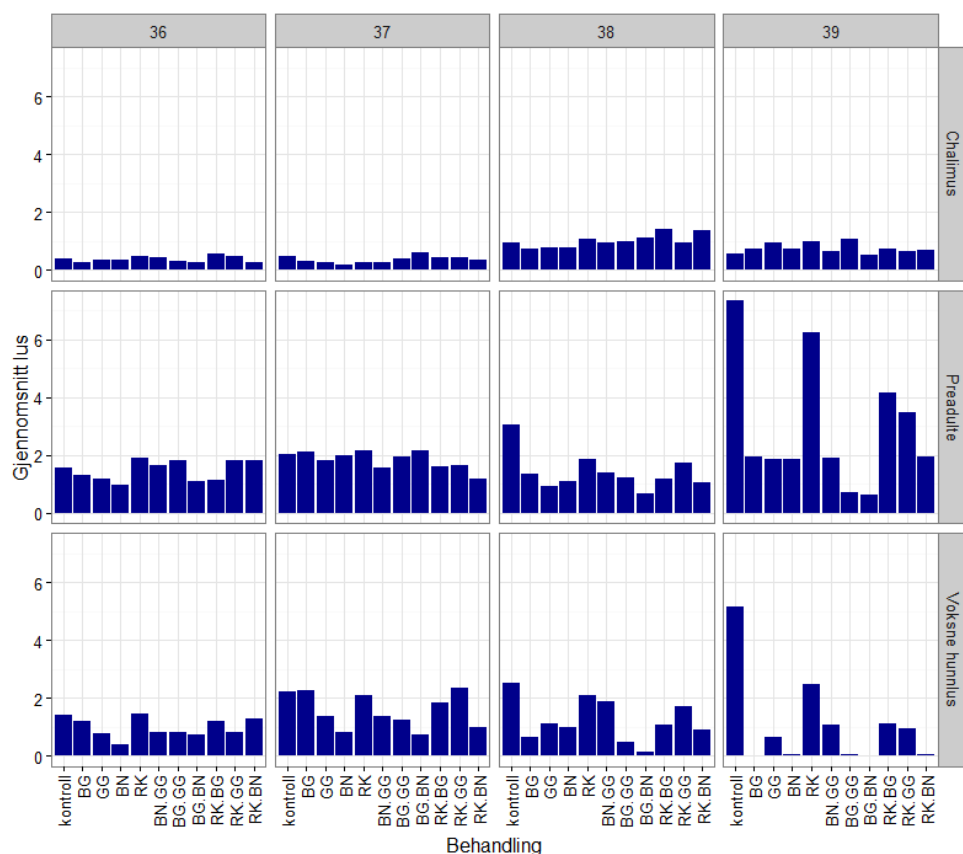
3.1 Lusetall

Figur 6 viser gjennomsnittstall for de ulike stadiene i ulike behandlinger, mens figur A3 (Appendix) viser også spredningen i lusetellingene som histogram. Disse viser klare effekter av leppefisk ved avslutning av forsøket, mens effekten av rognkjeks var kun gjeldene i kombinasjon med leppefisk.

Fastsittende lakselus: Da rensefisk i hovedsak vil beite på større stadier av lus, forventer vi ikke at antallet fastsittende stadier av vil bli påvirket av rensefisk. Forsøksmerkene ble fordelt i et tilfeldig mønster i anlegget for å motvirke at eventuelle forskjeller i nypåslag av lakselus vil påvirke resultatene. Det ble for øvrig ikke registrert signifikant forskjell i påslag av lus mellom noen av merkene i løpet av forsøksperioden (testet ved GLM, poisson fordeling). Det var ingen signifikant effekt av behandling på antall fastsittende lakselus i noen av de fire forsøksukene (Figur 6 og Figur 7).

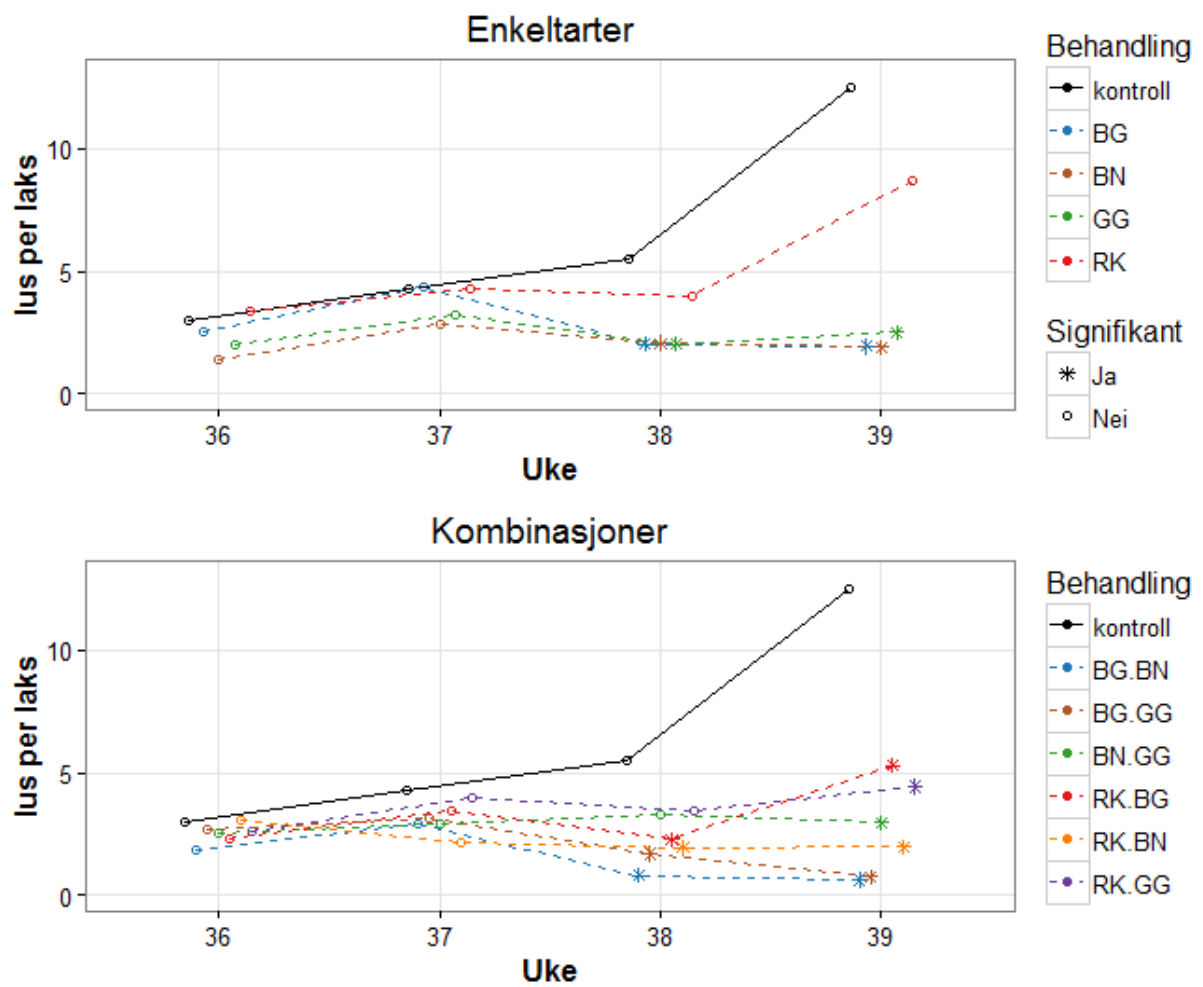
Preadulte lakselus: Fra mageanalyser i tidligere forsøk er det vist at både leppefisk og rognkjeks spiser preadulte lus og vi forventet dermed å se en effekt av rensefisk. Ved høy temperatur, som i denne perioden, vil lus vokse seg raskt inn i neste kategori. De to første ukene er det liten forskjell mellom behandlingene, men fra uke 38 (to uker etter utsett av rensefisk) begynner vi å se en effekt av rensefisk (Figur 6) I uke 39 er forskjellene mellom behandlingene større, med klart lavere antall lus i behandlingene med leppefisk

Voksne hunnlus: Vi antar at voksne hunnlus vil være mest utsatt for beiting av rensefisk siden de er mest synlige og har størst næringsverdi. De to første ukene ser vi liten forskjell mellom behandlingene, mens enkelte av behandlingene viser tydelige forskjeller i uke 38, som øker mot uke 39 (Figur 6). I uke 39 var det tilnærmet null eller null registrerte voksne hunnlus i behandlingene med enkeltarter leppefisk eller leppefisk i kombinasjon. Rognkjeks alene hadde liten effekt eller ingen effekt i forhold til kontroll. I en av replikatene med kombinasjonen bergnebb og grønnngylt var det uforklarlig høye lusetall (Gjennomsnitt på 3,2 voksne hunnlus i uke 39 mot ingen i de to andre replikatene).

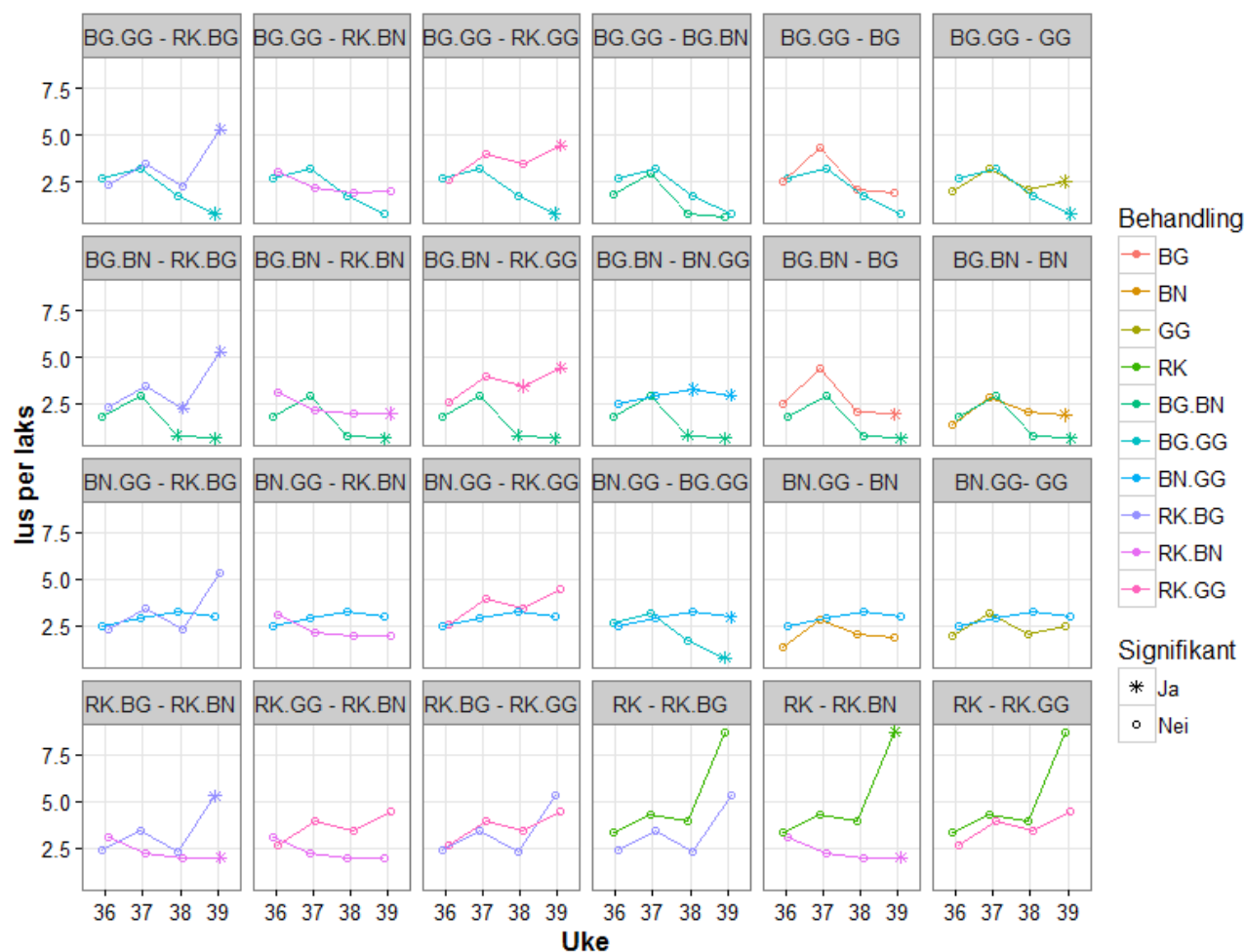


Figur 6: Gjennomsnittlig lusetall av de ulike stadiene gjennom de fire forsøksukene.

Statistiske forskjeller i preadulte + voksne hunnlus: I behandlingene med hver art enkeltvis sammenliknet med kontrollmerkene uten rensefisk var det signifikant lavere lusetall for alle tre leppefiskartene i både uke 38 og 39, men ikke for rognkjeks i noen av ukene. Av kombinasjonene var det berggyllt + bergnebb og berggyllt + grønnngyllt som gir den største effekten på lus (Figur 7 og Figur 8), og disse var ikke signifikant forskjellige fra hverandre i noen av ukene. *Kombinasjonen av bergnebb og berggyllt hadde også signifikant lavere lusetall sammenliknet med når disse artene ble brukt enkeltvis* (Figur 8). Kombinasjonene med rognkjeks og leppefisk hadde signifikant færre lus enn kontroll i uke 39, og tendensen var at disse lå noe høyere enn rene leppefiskkombinasjoner (Figur 8). Den som skilte seg ut med lavest lusetall av rognkjekskombinasjonene var rognkjeks + bergnebb; kun berggyllt + bergnebb hadde signifikant lavere i uke 39.



Figur 7: Utvikling i lusetall (preadulte og voksne hunnlus sammenslått) for enkeltarter (øverst) og kombinasjoner av rensefisk (nederst). Statistisk signifikante forskjeller fra kontrollbehandling er markert med stjerne (GLM – negativ binomial).



Figur 8: Parvise sammenlikninger av lusetall (preadulte og voksne hunnlus sammenslått) mellom ulike kombinasjoner av rensefisk. Statistisk signifikante forskjeller mellom behandlinger er markert med stjerne (GLM – negativ binomial).

3.2 Filmobservasjoner

Fisken roet seg raskt etter at kamerastativet ble senket ned. Det var litt tendens til å gjemme seg i skjulet eller å oppsøke kamera med en gang (særlig rognkjeks), ellers ble kameraet raskt ignorert av både laks og rensefisk. Et gjennomgående inntrykk er at all rensefisk forholder seg rolig og «opptatt med sitt», tilsynelatende uten territoriell adferd både i forhold til hverandre og til laksen. Uavhengig av hvilken annen art som var til stede var det et generelt inntrykk at artene har sine foretrukne dybder i merden og i skjulet. Artene er derfor beskrevet hver for seg, det er kommentert spesielt dersom det er adferd i en merd som har skilt seg ut fra andre merder/ behandlinger.

Rognkjeks (RK): På 0,5 meter var der stor aktivitet på rognkjeks. Fisken var for det meste frittsvømmende, et par observasjoner ble gjort av fisk som undersøkte eller festet seg på skjulet. Rognkjeks virket i det hele lite interessert i laksen (som ofte holdt seg noe lenger nede i merden), den var mer opptatt med å spise på ribbemaneter og annet plankton. Individforskjeller

innen arten var mer tydelige her enn hos leppefisk; Noen rognkjeks svømte aktivt rundt om i merden og langsmed notvegg, mens andre virket mer stedbundne og holdt seg i området 1-1,5 meter fra skjulet, nærme vannspeilet. Rognkjeks ble nesten ikke observert i de to nederste kameraene (på 2 og 4 m dyp), i flere av merdene var det ingen observasjoner ved 4 meter. Det var ingen observasjoner av lusespising og heller ingen nevneverdig interesse for laksen.

Bergnebb (BN): Bergnebb viste et tydelig mønster bortimot omvendt av det for rognkjeks. Generelt var det kun en og annen frittsvømmende bergnebb å se i de øverste meterne. På 2 m dyp ble det observert en og annen bergnebb frittsvømmende eller langs notveggen. Flest bergnebb var å se ved den nederste enden av skjulet, men likevel såpass få at en må regne med at en del gikk enda dypere enn det kamera fanget opp. Noen bergnebb var også å se langsmed notveggen på motsatt side av merden. Det var mulig å artsbestemme leppefisken over avstand på grunn av svært god sikt, noe som gjorde det mulig å se den relativt slanke kroppen og de mer fleksible, grasiøse bevegelsene som bergnebb har, i forhold til annen leppefisk. I kombinasjonen med rognkjeks ble det sett flere tilfeller av at bergnebb plukket/ spiste på laks. I kombinasjonen med berggyllt var det fremdeles bergnebb som dominerte i det nederste sjiktet, og her kunne en se noen tilfeller av lusespising hos både bergnebb og berggyllt.

Grønngyllt (GG): Gjennomgående inntrykk er at grønngyllt fordelte seg i større grad i vannsøylen enn de andre artene. De fleste observasjoner gjort av frittsvømmende grønngyllt er på rundt 2 meters dyp. Ved 4 meter virket det å være noe mer vanlig at grønngyllten holdt seg nær skjulet, og det var litt færre frittsvømmende. Grønngyllt virker generelt å ha noe mer aktiv adferd enn annen leppefisk. En gruppe på 3-4 grønngyllt ble observert «dansende» rundt hverandre i et lite område 1-2 meter ut fra skjulet (0.5 m dyp). De virket å søke/snappe i vannet, mulig etter plankton, og enset ikke laksen som ofte kom svært nær. Noen grønngyllt var så vidt innom skjulet en tur, for så å svømme ut igjen og fortsette «dansen». Enkelte grønngyllt viste aggressiv adferd mot individ av egen art (ved 2- 4 meters dyp, både sammen med berggyllt og bergnebb), der en grønngyllt jaget vekk en annen. Dette skjedde nært inntil skjulet. Denne adferden ble ikke registrert hos noen av de andre artene i forsøket. Grønngyllt var også den av artene som virket å ha størst interesse av å plukke på selve tarebladene i skjulet. Et par tilfeller av lusespising på laks ble sett i midterste delen av merden.

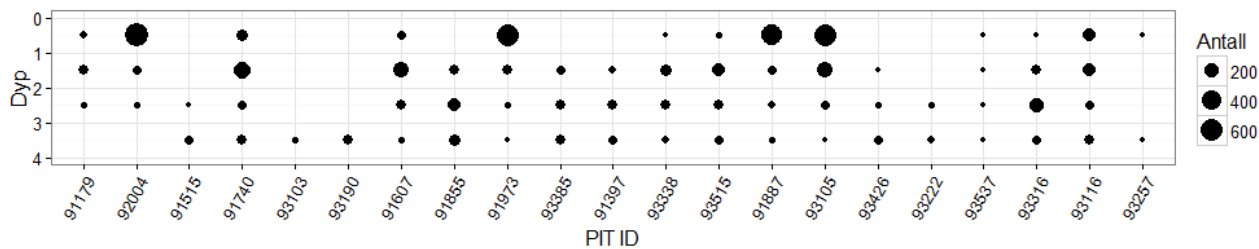
Berggyllt (BG): Øverst i merdene ble der jevnt over ikke observert berggyllt. Et unntak var i en merd med BG/ RK, der det på 0,5 m dyp var omtrent like mange observasjoner av berggyllt inne i skjulet som av rognkjeks svømmende fritt. I mellomssjiktet (2 m) var berggyllt mye observert, noenlunde likt fordelt inne i og utenfor skjulet. Berggyllt dominerte dette sjiktet da den gikk sammen med bergnebb og med rognkjeks. (Dessverre mangler tydelige opptak fra merd der berggyllt går sammen med grønngyllt). Ved 4 meters dyp var berggyllten også vanlig å se både ute mellom laksen og inne i skjulet. I kombinasjonen med bergnebb var der flere observasjoner av berggyllt inne i skjulet enn utenfor. Av de fire artene er det berggyllt som virker å være den mest nærgående i forhold til laksen, ved at den svømmer innimellom og oftest tydelig søker langs kroppen på laksen.

3.3 Rensefisken plassering gjennom døgnet ifølge PIT-registreringer

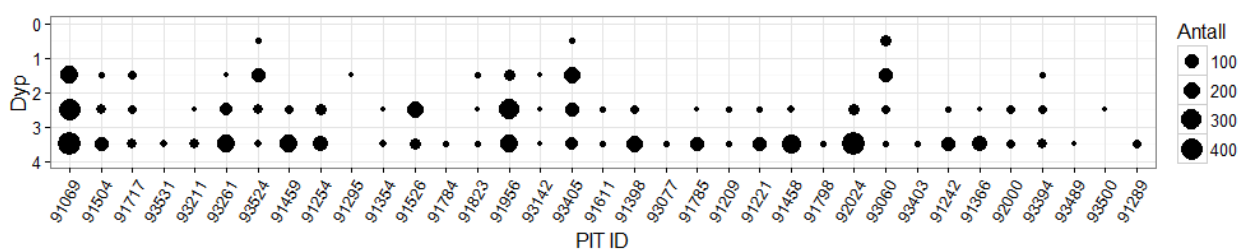
I tabell 3 er det oppsummert hvor mange slike median-dyp-per-time registreringer vi hadde av de ulike artene og behandlingene. Gjennomsnittlig mediandyp er også gitt. I Figurer 9, 10, 11, 12 vises hvordan alle registreringer fordeler seg på dybde per individ. Her ser man tydelig at noen individer står for svært mange registreringer på enkelte antenner (dyp). I Figur 13 viser de ulike artenes prosentvise fordeling på ulike dyp gjennom døgnet hele forsøksperioden slått sammen. Figur 14 viser døgnvariasjonen i antall registreringer for de ulike artene. Etter følger beskrivelse av trendene per art.

Tabell 2: Oppsummering PIT-registreringer hvor registreringer av antenne innen en time er slått sammen. N er antall individer, registreringer er antall individ-registreringer i hele perioden og gjennomsnittsdyp gir gjennomsnittet av alle median-dypene registrert per time.

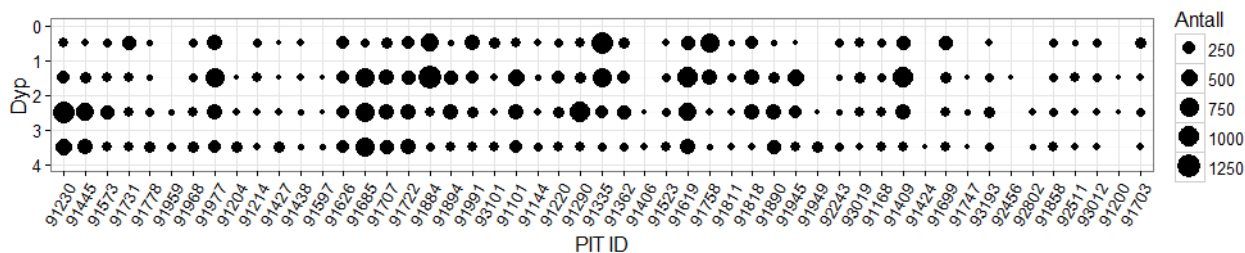
Art	Behandling	N	Registreringer	Gjennomsnittsdyp
BG	BG	21	411	1.8
BN	BN	28	355	3.0
BN	BN.GG	7	106	3.3
GG	BN.GG	17	310	2.6
GG	GG	23	1057	2.0
GG	RK.GG	11	440	2.3
RK	RK.GG	12	239	0.6



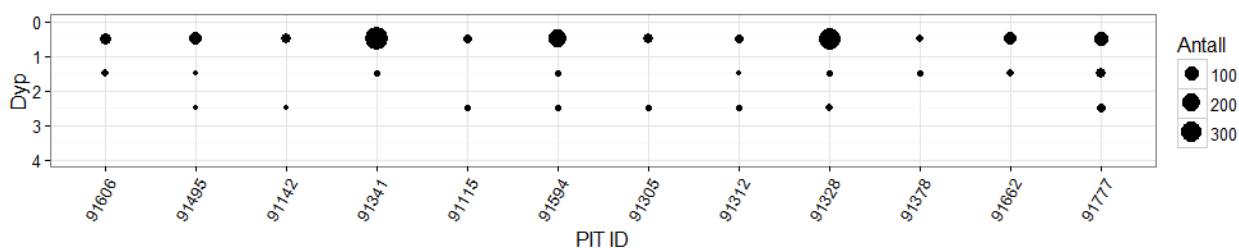
Figur 9: Antall registreringer (totalt) og dybdefordeling for ulike berggyllt i forsøkene. Individene er sortert fra minst (venstre) til størst (høyre) i denne og figur 12-14.



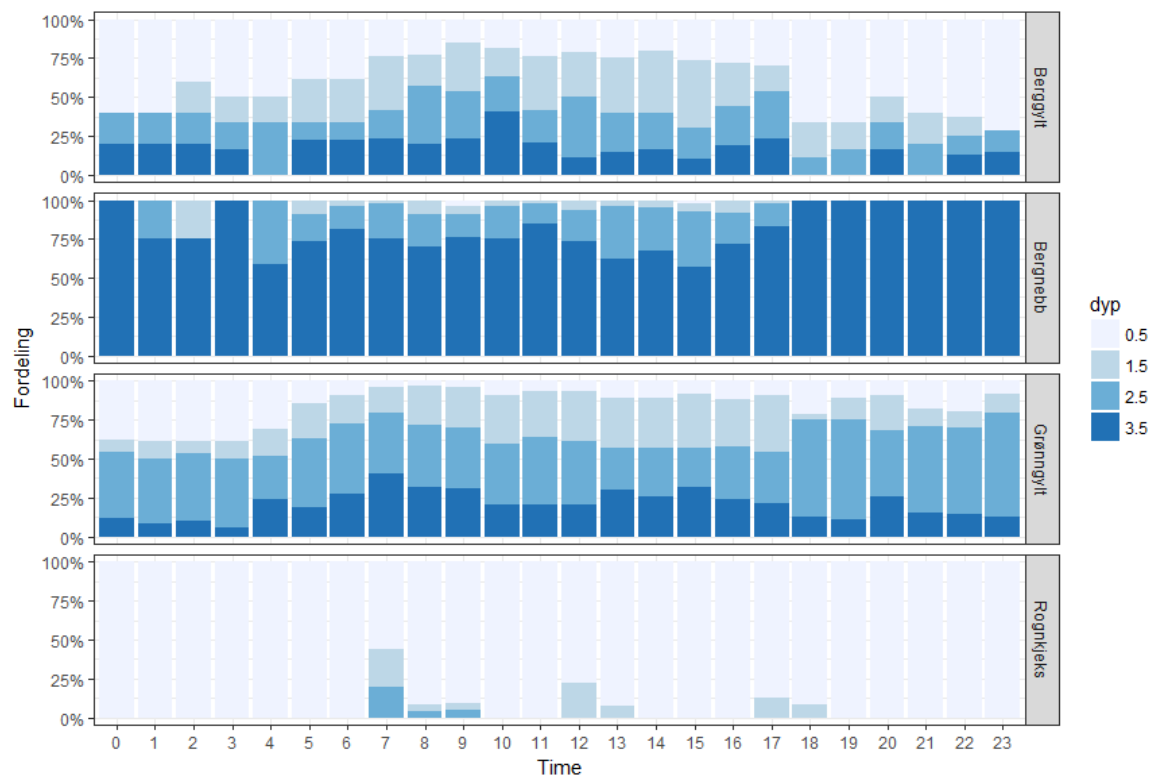
Figur 10: Antall registreringer (totalt) og dybdefordeling for ulike bergnebb i forsøkene.



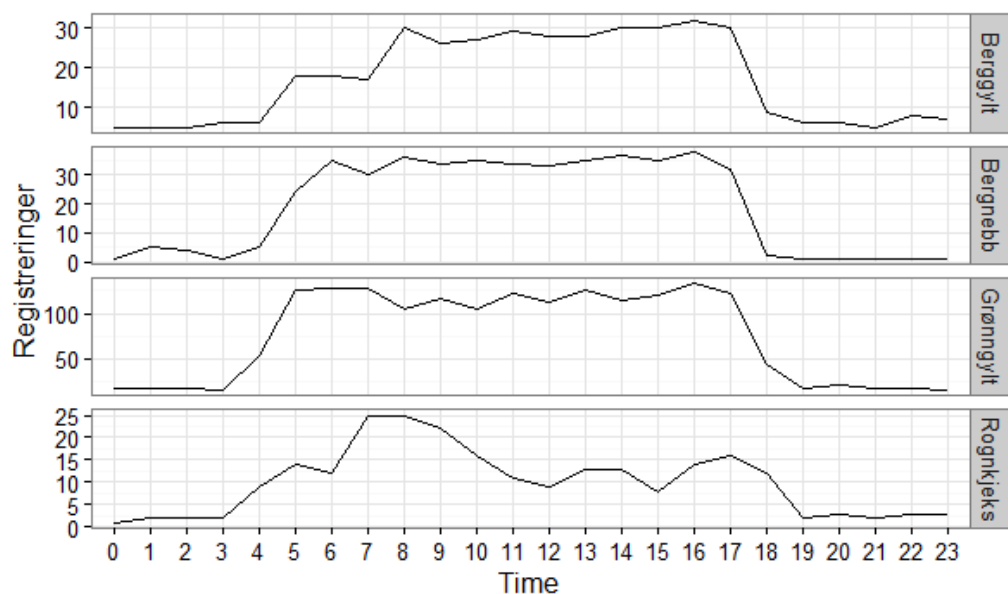
Figur 11: Antall registreringer (totalt) og dybdefordeling for ulike grønnngyllt i forsøkene.



Figur 12: Antall registreringer (totalt) og dybdefordeling for ulike rognkjeks i forsøkene.



Figur 13: Relativ fordeling av posisjon for de ulike rensefiskartene gjennom døgnet registrert med PIT antenner. Behandlinger med enkeltarter og kombinasjon er slått sammen.



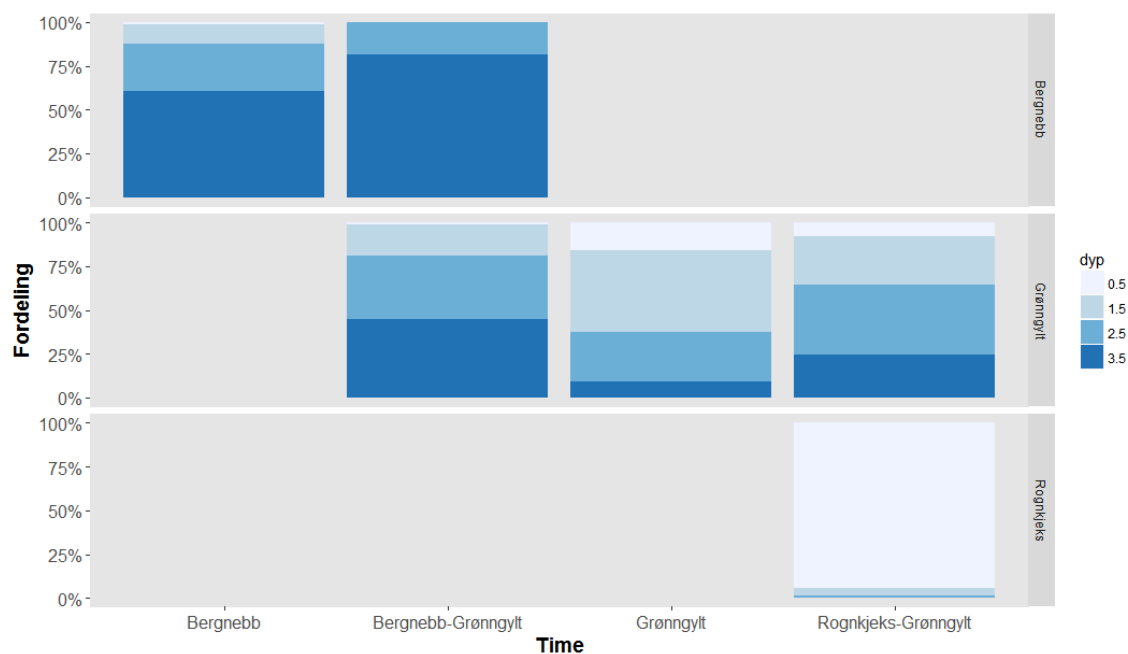
Figur 14: Antall registreringer (maks 1 per timer per individ) for de ulike rensefiskartene gjennom døgnet

Berggyll: For berggyllt har vi bare registreringer av merder der berggyllt var eneste rensefiskart. Det var ingen utpregede individforskjeller i dybdefordeling (Figur 9). Berggyllt oppholder seg langs hele dybden av skjulet, men med færre registreringer nederst. Aktiviteten på berggyllt er høyest fra kl 08.00 til kl 17.00 (Figur 14).

Bergnebb: For bergnebb har vi registreringer i merder med kun bergnebb og med kombinasjonen bergnebb/grønngylt. Generelt vil bergnebb oppholde seg i den nedre delen av merden (Figur 10), men enkelte individer var mer aktive øverst (Figur 10). Aktiviteten på bergnebb er høyest fra kl 06.00 til kl 17.00 (Figur 14). I kombinasjonen grønngylt/bergnebb så vi at bergnebb trakk enda dypere i merden når det var grønngylt til stede enn når de var eneste rensefisk i merden (Figur 15).

Grønngylt: For grønngylt har vi registreringer i merder med kun grønngylt og med kombinasjonene bergnebb/grønngylt og rognkjeks/grønngylt. Grønngylt oppholder seg jevnt fordelt i hele vannsøylen (Figur 11), med relativ store individforskjeller i dybdepreferanse (Figur 13). Aktiviteten på grønngylt er høy fra kl 05.00 til kl 17.00 (Figur 14). I kombinasjon med bergnebb var det en tendens til at grønngylten opptrådte dypere i enn når den var alene. Grønngylt var også noe dypere i kombinasjon med rognkjeks i forhold til når den var alene som rensefisk art. Selv om analysene av filmene ikke avdekket direkte aggresjon mellom de ulike rensefiskartene (bare grønngylt ble observert å jage andre grønngylt), kan artene likevel påvirke hverandre og endre hvor de plasserer seg i forhold til hverandre.

Rognkjeks: Her har vi kun registreringer i merd med kombinasjonen rognkjeks/ grønngylt. Rognkjeks oppholder seg i øvre del av merden (Figur 12 og Figur 13). Rognkjeks har en mer variabel aktivitetskurve enn leppefiskene, med en topp fra 07-09 og lavere frem til kl 18 (Figur 14). Det var færre registreringer av rognkjeks, da disse oftest ble observert svømmende fritt i øvre del av vannmassene (og dermed ikke ble registrert av antennene i skjulet).



Figur 15: Dybdefordeling av de ulike artene i tidsrommet 08-16 alene og i kombinasjonsbehandling. Rognkjeks har kun data i kombinasjon med grønngylt.

3.4 Dødelighet på laks og rensefisk

Dødelighet på laks og rensefisk ble registrert ved bruk av dødfiskhåv montert i bunnen av hver merd. Tabell 3 viser dødelighet per merd i løpet av perioden. Mot slutten av perioden ble AGD problemene for laksen store, og økende dødelighet førte til at resten av forsøket måtte termineres.

Tabell 3: Registrert dødelighet av laks og rensefisk i forsøksperioden. Ved start var det 500 laks og 24 rensefisk i hver merd. Død rensefisk ble fortløpende erstattet med nye (totalt tall i parentes).

	Laks	Grønngylt	Rognkjeks	Bergnebb	Berggylt
Start	16830	180 (+48)	180 (+13)	180 (+14)	180 (+11)
Uke 0	165	9			9
Uke 1	222	35	1	13	3
Uke 2	773	15	1	2	3
Uke 3	3527	4	4		1
Uke 4	3628	1	7		13
Total	8315	64	13	15	29
% dødelighet	49,4	28,1	6,7	7,7	15,2

4 Del I: Diskusjon

De tre leppefiskeartene reduserte lusetallene effektivt. Det var ingen forskjeller mellom artene når de ble brukt enkeltvis. Kombinasjoner av leppefisk tyder på å være mer effektivt enn å bruke artene enkeltvis. Berggylt i kombinasjon med bergnebb gav signifikant lavere lusetall enn de alle andre behandlinger, med unntak av kombinasjonen berggylt og grønngylt. Spesielt på preadulte lus var kombinasjonen berggylt og bergnebb effektiv. Rognkjeks fungerte dårligere som luseplukker i dette forsøket, når de var alene (høyest lusetall, ikke signifikant lavere enn kontrollbehandling). Det var mye sol i hele perioden forsøket varte, noe som medførte at laksen gikk dypt i merdene. Rognkjeks holdt imidlertid til i øvre del av merden, altså sjelden der laksen var. Vi observerte at rognkjeks beitet mye på andre byttedyr i vannet. De var spesielt glad i maneter, og det var mye maneter i sjøen gjennom forsøksperioden. Generelt var også lusetallene høyere i rognkjeks-leppefisk kombinasjoner enn i rene leppefiskkombinasjoner, bortsett fra rognkjeks og bergnebb sammen. Dette kan muligens forklares av en kontrasterende dybdeatferd hos disse artene, ved at rognkjeks holder seg grunt mens bergnebben går dypt og kombinasjonen av disse dekker dermed et større område for avlusning. Lusetellingene viser at grønngylt, berggylt og bergnebb alene som rensefiskart holder lusetallet godt nede, mens det var grønngylt-berggylt og bergnebb-berggylt som gav den beste effekten (ikke signifikant forskjellige fra hverandre). I kombinasjon grønngylt-bergnebb var det en merd med ekstra høye lusetall, mens de andre to andre med samme kombinasjon fungerte bra.

Forskjellene i lusetall mellom ulike kombinasjoner og enkeltarter kan relateres til at vi observerte tydelige forskjeller i dybdeatferd; leppefiskene benyttet et større dybdespenn – grønngylten hadde størst variasjon i dybdebruk, mens berggylt hadde tendens til å stå grunnere, mens bergnebben var generelt dypere enn de andre artene. Dette samsvarer til en viss grad med dybdefordelingen som observeres i naturen, hvor bergnebben står dypere enn grønngylt. Rognkjeks ble hovedsakelig registrert i overflaten i dette forsøket. Dette kan skyldes høy vanntemperatur og mye maneter i sjøen som rognkjeks ble observert beite på. Det er derfor sannsynlig at rognkjeks har en annen dybdepreferanse og bedre effekt på lusetall under andre miljøbetingelser. Selv om forsøkene demonstrerer at kombinasjoner av ulike leppefisk arter tyder på å gi en god effekt og fungerer fint sammen, er det fortsatt behov for bedre forståelse av sesongmessige variasjoner i adferd og lusebeiting for å få en optimal utnyttelse av rensefisk og en rett kombinasjon av artene gjennom hele året. Dette forsøket ble gjennomført i september, når sjøtemperaturene er høye. Når temperaturen faller utover høsten, vil den naturlige beiteaktiviteten hos leppefisk falle, mens rognkjeks opprettholder i stor grad aktivitetsnivået. Forsøksoppsett med PIT-antennene viste seg å være godt egnet for å få presis informasjon om aktivitets nivå og dybdepreferanse og vil bør derfor vurderes som metode for å se på sesongmessige variasjoner i adferd hos rensefisk. Filming kan gi tilsvarende informasjon og også dokumentere beiting, men dataanalyse er mer tidskrevende, så det anbefales å bruke filming som en komplementær metode til antenneregistrering.

5 Del II: Rensefiskers toleranse for ferskvanns- og hydrogenperoksidbehandlinger mot amøbisk gjellesykdom (AGD) – Innledning

Amøbisk gjellesykdom (engelsk: amoebic gill disease, AGD) er en smittsom fiskesykdom som forårsakes av den parasittiske, marine amøben *Paramoeba perurans* (Crosbie *et al.* 2012). Amøben infiserer fiskegjeller og forårsaker lesjoner som kan føre til at fiskene får respirasjonsvansker, systemisk hypertensjon, og kan dø dersom de ikke blir behandlet (Munday *et al.* 1990, Powell *et al.* 2002, Leef *et al.* 2005, Leef *et al.* 2007, Steinum *et al.* 2008, Mitchell & Rodger 2011). *P. perurans* viser liten vertsspesifisitet og kan infisere en rekke ubeslektede marine og euryhaline fiskearter (Nowak *et al.* 2002, VKM 2014), men rammer først og fremst laksefisker i oppdrett (Young *et al.* 2007, Steinum *et al.* 2008, Young *et al.* 2008, Bustos *et al.* 2011, Rozas *et al.* 2012). De mest brukte metodene for behandling mot AGD er å bade fiskene 2–4 timer i vann med lav saltholdighet (H_2O , $S < 5\text{‰}$) (Parsons *et al.* 2001, Powell *et al.* 2001, Clark *et al.* 2003, Roberts & Powell 2003, Adams & Nowak 2004, Powell *et al.* 2015) eller 15–20 minutter i hydrogenperoksidløsning (H_2O_2 , $c = 1\ 000\text{--}1\ 500$ ppm aktiv substans) (Rach *et al.* 1997, Adams *et al.* 2012, Hytterød *et al.* 2017). Dette gjøres vanligvis ved hjelp av en presenning som trekkes rundt og under merden, eller i en brønnbåt. Både ferskvanns- og hydrogenperoksidbehandlinger reduserer forekomsten av amøber, men ingen av metodene er 100 % effektive (Parsons *et al.* 2001, Powell & Clark 2003, Roberts & Powell 2003, Hytterød *et al.* 2017).

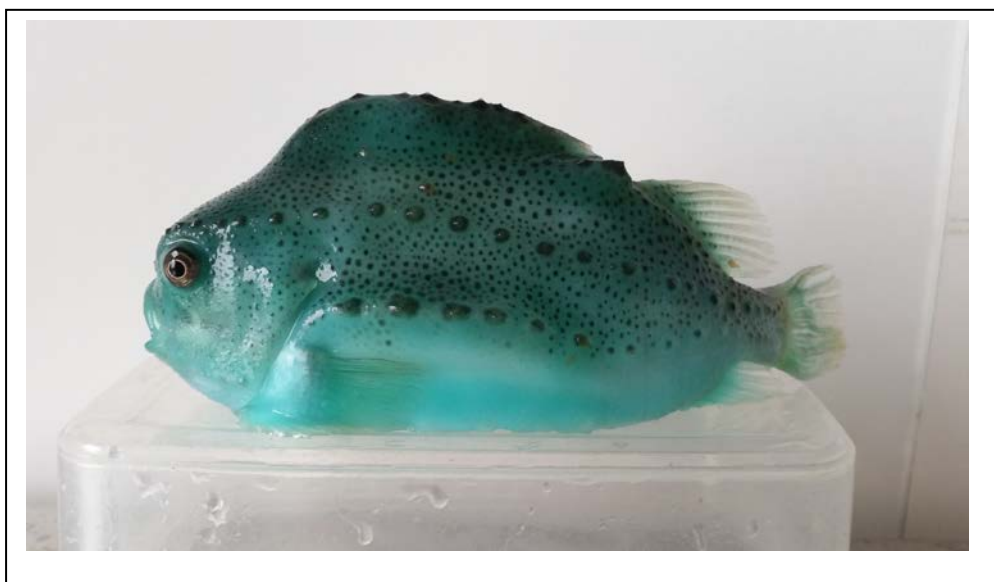
Laks og regnbueørret er anadrome fiskearter som etter smoltifisering er euryhaline og har høy kapasitet for osmoregulering (Hoar 1976, Folmar & Dickhoff 1980, Wedemeyer *et al.* 1980, McCormick & Saunders 1987, Hoar 1988). Disse artene tåler tilsynelatende godt å være i vann med lav saltholdighet, og behandlinger med ferskvann ser ikke ut til å ha signifikant patologisk innvirkning på fiskene (Powell *et al.* 2001, Mo & Hytterød 2016). Når det gjelder behandlinger med hydrogenperoksid, er det observert at laksefisker blir stresset, endrer adferd og kan få skader på hud, øyne og gjeller (Johnson *et al.* 1993, Kierner & Black 1997, Speare *et al.* 1999, Bowers *et al.* 2002, Mo & Hytterød 2016, Hytterød *et al.* 2017). Det er også rapportert om dødelighet (Kierner & Black 1997, Powell *et al.* 2005, Karlsbakk 2015, Hytterød *et al.* 2017).

Ved utbrudd av AGD hos laksefisker i merder med kohabiterende rensefisker, er det nødvendig at samtlige fisker behandles fordi også rensefiskene kan være infiserte (Karlsbakk *et al.* 2013, Haugland *et al.* 2015, Hjeltne *et al.* 2016). Ettersom det er variasjon mellom ulike fiskearters toleranse for lav saltholdighet (Whitfield & Blaber 1981, Wu & Woo 1983, Bennett 1985) og hydrogenperoksid (Mitchell & Collins 1997, Rach *et al.* 1997, Gaikowski *et al.* 1999), kan behandlingene som brukes på for eksempel laks og regnbueørret ikke uten videre brukes på andre fiskearter. Vanligvis behandles rensefisken sammen med laksen, og det er i denne sammenheng stor dødelighet på rensefisken. Det er imidlertid ikke undersøkt om rensefiskene tåler behandlingene som brukes. Tolererer imidlertid rensefisken selve behandlingen med

ferskvann eller H_2O_2 , er det håndteringen av rensefisken som kan være et problem ved en behandling sammen med laksefiskene.

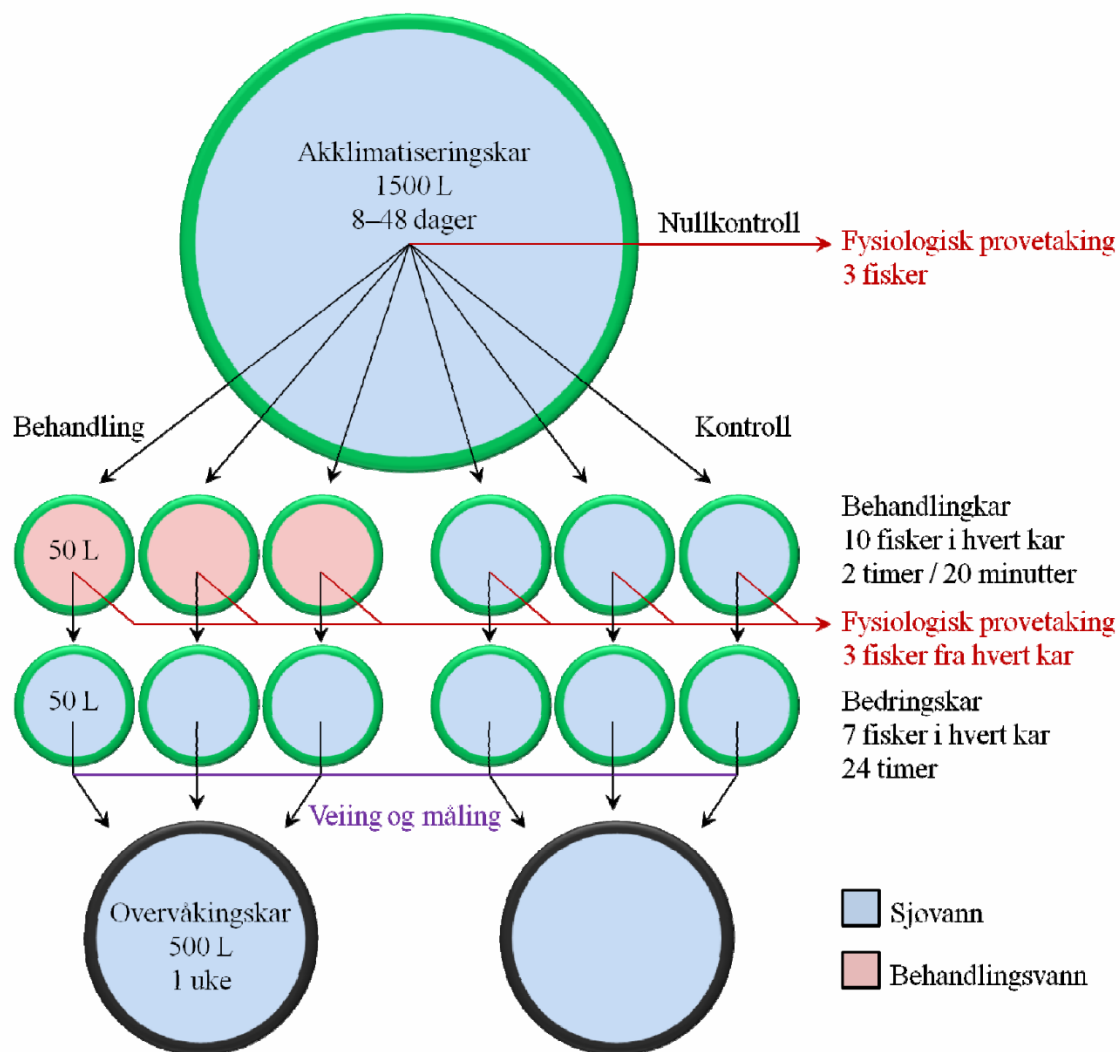
Rensefiskartene som benyttes til avlusing av laksefisker, er marine arter som ikke naturlig er å finne i ferskvann ($S < 0,5\text{‰}$). Leppefisker og juvenile rognkjekser lever imidlertid i sublittoralsonen (Quignard & Pras 1986, Lythgoe & Lythgoe 1991, Ingólfsson & Kristjánsson 2002) hvor vannet over haloklinen har redusert saltholdighet som følge av ferskvannsavrenning fra land (Mann & Lazier 2006). Det er derfor mulig at de kan tåle vann med lav saltholdighet. Sayer *et al.* (1996) undersøkte blant annet toleransen til bergnebb, gressgylte og grønnngylte overfor reduksjoner i saltholdighet ned til $S = 8\text{‰}$ over 5–6 dager og fant at alle artene overlevde dette. Til behandling mot AGD i oppdrett av berggylte, er det med hell brukt brakkvann med en saltholdighet på 15‰ over flere dager (Dahle 2015, Karlsbakk 2015), men det har vist seg fatalt med overføring direkte til ferskvann. I forbindelse med hydrogenperoksidbehandling av laksefisker har noen oppdrettere rapportert om høy dødelighet av kohabiterende rensefisker, mens andre har rapportert at rensefiskene tåler behandlingen godt.

Målsettingen for denne undersøkelsen var å avdekke om rensefiskartene berggylte (*Labrus bergylta*), bergnebb (*Ctenolabrus rupestris*), grønnngylte (*Symphodus melops*) og rognkjeks (*Cyclopterus lumpus*) tåler ferskvanns- og hydrogenperoksidbehandlinger (H_2O_2) mot amøbisk gjellesykdom (AGD).



6 Del II: Materiale og metoder

Forsøkene ble utført ved Havforskningsinstituttets forskningsstasjon på Austevoll. Bergnebb og grønngylte til forsøkene ble fanget lokalt, mens berggylt og rognkjeks kom fra oppdrett. Berggyltene var drettet opp på Austevoll forskningsstasjon, mens rognkjeksen kom fra Norsk Oppdrettsservice AS i Flekkefjord. De totale kroppslengdene til fisk benyttet i forsøkene var $11,4 \pm 1,4$ cm for berggylt ($N = 127$), $12,6 \pm 0,9$ cm for bergnebb ($N = 119$), $14,0 \pm 2,1$ cm for grønngylte ($N = 127$) og $7,9 \pm 1,2$ cm for rognkjeks ($N = 108$).



Figur 16. Oversikt over hvert behandlingsforsøk med hver fiskeart. Samtlige kar inneholdt sjøvann, bortsett fra halvparten av behandlingskarene som inneholdt vann med redusert saltholdighet eller hydrogenperoksidløsning. Ferskvannsbehandling varte i 2 timer, mens hydrogenperoksidbehandling varte i 20 minutter.

Figur 16 gir en oversikt over forsøksoppsettet. Fiskene ble fordelt etter art i fire 1 500-liters akklimeringskar i forsøkshallen hvor de ble holdt i minst åtte dager før behandlings-

forsøkene, som ble utført i 50 liters kar, ble gjennomført. Vanntemperaturen ble holdt på ~12 °C i akklimatiseringskarene og i alle forsøkene.

For hver behandlingstype (direkte ferskvann, gradvis ferskvann og hydrogenperoksid) skulle det behandles ti fisker av hver art i tre paralleller, og utføres kontroll med ti fisker av hver art i tre paralleller. Ved forsøksstart ble tre fisker håvet ut av akklimatiseringskaret for fysiologisk prøvetaking (nullkontroller). Deretter ble ti fisker til hver behandlingsparallell overført til 50-liters behandlingskar for behandling med ferskvann eller hydrogenperoksid, og ti fisker til hver kontrollparallell ble overført til tilsvarende kar med sjøvann. Etter utløpt eksponeringstid (2 timer ved ferskvannsbehandling og 20 minutter ved hydrogenperoksidbehandling), ble tre fisker fra hver behandlings- og kontrollparallell avlivet for fysiologisk prøvetaking, mens de resterende sju fiskene fra hver parallell ble overført til 50-liters bedringskar med sjøvann for studier av adferd, appetitt og overlevelse. Etter ett døgn i bedringskarene, ble fiskene veid og målt og overført til 500-liters overvåkingskar med sjøvann. Der ble fiskene observert og røktet som normalt i én uke før forsøkene ble avsluttet.

For hver av de fire rensefiskartene ble det planlagt å gjennomføre tre ulike behandlinger med parallelle kontroller:

1. Direkte ferskvann: Fisker overføres til kar med ferskvann og holdes der i 2 timer.
2. Gradvis ferskvann: Fisker overføres til kar med sjøvann som gradvis blir erstattet med ferskvann i løpet av 2 timer. Deretter blir fiskene holdt 2 timer i det resulterende lavsaltholdighetsvannet ($S < 5\text{‰}$).
3. Hydrogenperoksid: Fisker overføres til kar med sjøvann tilsatt hydrogenperoksidløsning i en konsentrasjon på 1 500 ppm og holdes der i 20 minutter.
4. Kontroll: Fisker overføres til kar med sjøvann og holdes der i 20 minutter eller 2 timer avhengig av den parallelle behandlingen. Dette for å kontrollere hvordan overføringen av fisker mellom kar i forbindelse med behandlingene påvirker fiskene.

Behandlingen med direkte ferskvann ble antatt å være den mest belastende for fiskene. Det ble utført et pilotforsøk for å få se hvordan de ulike rensefiskartene reagerte på denne behandlingen. Om lag ti fisker av hver art ble overført fra akklimatiseringskarene til 50-litersbehandlingskar med stagnerende ferskvann. Dersom en fisk «bikket over», la seg på siden, ble den umiddelbart håvet over i et 50-liters bedringskar med gjennomstrømmende sjøvann. Tiden det tok til eventuell «bikking» ble notert. Pilotforsøket ble avsluttet etter 2 timer. Fiskene ble deretter samlet i et felles 500-liters overvåkingskar med skjul og ikke benyttet i senere behandlingsforsøk.

På bakgrunn av resultatene fra pilotforsøket (se resultatkapittel), hvor leppefiskartene fikk problemer mens rognkjeksene tilsynelatende klarte seg bra, ble det besluttet å droppe behandlingen med direkte ferskvann for leppefiskartene. Det var ikke tilstrekkelig antall rognkjeks til å teste både direkte og gradvis ferskvann, og ut fra resultatene i pilotforsøket, ble direkte ferskvannsbehandling valgt for rognkjeks.

For hver art og behandling ble det utført tre paralleller og tre kontrollparalleller med ti fisker i hver parallell. For hver parallell ble det foretatt fysiologisk prøvetaking av tre fisker og overført sju fisker til adferdsstudier. Det ble også foretatt fysiologisk prøvetaking av tre fisker før behandling som nullkontroll.

På forsøksdagene ble de rensefiskene som skulle behandles ikke føret i akklimatiseringskarene om morgenen. Dette fordi det skulle observeres hvor lang tid det tok før fiskene begynte å spise igjen etter behandlingene, noe som er en god indikator på fiskenes stressnivå (Bernier 2006). Som stressindikator skulle også fiskenes konsentrasjon av glukose i blodplasma måles (Silbergeld 1974, Hattingh 1977, Wedemeyer & Yasutake 1977). Slike målinger er mindre pålitelige fra førede fisker enn fra uførede fisker fordi inntak av fôr fører til økt konsentrasjon av glukose i blodet (Gutiérrez *et al.* 1984). Inntak av fôr kan også redusere stressresponsen (Olsen *et al.* 2008). Den utelatte føringen om morgenen innebar at fiskene ved oppstart av behandlingsforsøkene ikke var blitt føret på cirka 12 døgngrader (ett døgn ved 12 °C).

6.1 Gjennomføring

Hvert av behandlingsforsøkene ble initiert ved å håve tre fisker enkeltvis ut av et akklimatiseringskar for fysiologisk prøvetaking. Tilnærmelsen til karet var den samme som ved daglig røkting for å stresse fiskene minst mulig. Disse fiskene fungerte som nullkontroller for dokumentasjon av fiskenes fysiologiske tilstand før forsøkene. Deretter ble vannstanden i akklimatiseringskaret senket før 60 fisker ble tilfeldig håvet ut og fordelt med ti fisker i hvert behandlingskar. Halvparten av de overførte fiskene ble benyttet som kontrollfisker og gjennomgikk samme prosedyre som de behandlede fiskene, bortsett fra at de hele tiden ble holdt i sjøvann. Det ble benyttet tre behandlingsparalleller og tre kontrollparalleller til hvert behandlingsforsøk. Behandlingskarene inneholdt stagnerende vann, og oksygen ble derfor tilført ved behov med en slange som ble plassert midt i behandlingskarene. Etter utløpt eksponeringstid, ble det fra hvert behandlingskar håvet ut tre fisker for fysiologisk prøvetaking, mens de resterende sju fiskene ble overført til bedringskar for studier av adferd, appetitt og overlevelse.

6.1.1 Direkte ferskvann

Kun rognkjekser ble behandlet med direkte ferskvann. Rognkjeksene ble overført til behandlingskar med luftet ferskvann. Parallellene ble igangsatt med ett kvarters mellomrom. Før behandlingen ble det besluttet å bruke de største rognkjeksene først, slik at de minste skulle få mer tid til å vokse før senere behandlingsforsøk med hydrogenperoksid. De største fiskene ble derfor selektivt håvet ut av akklimatiseringskaret og overført til kontrollkarene med sjøvann. Da rognkjekser skulle haves ut av akklimatiseringskaret og overføres til behandlingskarene med ferskvann, var det imidlertid ikke nok store fisker igjen, slik at også noen små fisker måtte benyttes. Dette viste seg i ettertid å ha ført til en signifikant størrelsesforskjell mellom rognkjekser i behandlingskarene med ferskvann og i kontrollbehandlingskarene med sjøvann.

6.1.2 Gradvis ferskvann

Kun leppefisker ble behandlet med gradvis ferskvann. Parallellene ble igangsatt med ti minutters mellomrom. Fiskene ble overført til behandlingskar med sjøvann hvor det hvert kvarter over en periode på 2 timer ble tappet ut 10 liter vann fra karene. Deretter ble det tilsatt 10 liter luftet ferskvann. Saltholdigheten i karene ble gradvis redusert fra $S = 34,7$ til $S = 2,4-3,0$ i løpet av 2 timer. Deretter ble fiskene holdt 2 timer i dette vannet.

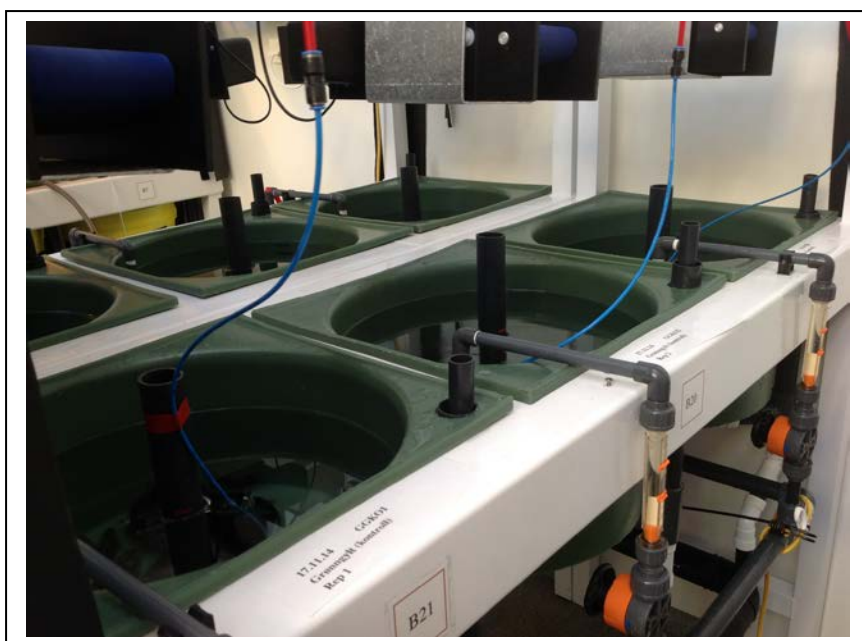
6.1.3 Hydrogenperoksid

Ved hydrogenperoksidbehandling av laksefisker mot *P. perurans* / AGD, benyttes vanligvis en konsentrasjon av hydrogenperoksid på 1 000–1 500 ppm aktiv substans (Rach et al. 1997, Adams et al. 2012, Hytterød et al. 2017). Ved behandling mot lakselus og eventuell simultanbehandling mot begge parasittene, benyttes imidlertid ofte en konsentrasjon på 1 500 ppm aktiv substans (Treasurer & Grant 1997, McAndrew et al. 1998, Grant 2002), og det ble derfor besluttet å utføre behandlingsforsøkene med denne konsentrasjonen. Det ble beregnet at 128,6 mL 35 % hydrogenperoksidløsning skulle tilsettes i 30 liter sjøvann i hvert av behandlingskarene. For å få en jevn fordeling av hydrogenperoksid i sjøvannet, ble løsningen først blandet ut med 10 liter sjøvann i en plastbøtte, før innholdet i bøtta ble helt over i hvert av behandlingskarene som var forhåndsfylt med 20 liter sjøvann. Deretter ble fisker overført fra akklimatiseringskarene til behandlingskarene. Eksponeringstiden var 20 minutter. Ettersom det ikke var arbeidskapasitet til å utføre fysiologisk prøvetaking av tre fisker samtidig, ble prosedyren for behandlede fisker endret i forhold til prosedyren under ferskvannsbehandlingene, slik at det etter utløpt eksponeringstid ble ti minutter mellom hver av fiskene som skulle undersøkes. Dette ble oppnådd ved å overføre åtte fisker fra akklimatiseringskaret til hvert av behandlingskarene med hydrogenperoksidløsning i første omgang. Etter 20 minutter i ett av behandlingskarene, ble én fisk tatt ut for fysiologisk prøvetaking, mens de øvrige sju fiskene ble overført til ett av bedringskarene. Samtidig ble én annen fisk håvet ut av akklimatiseringskaret og overført til det samme behandlingskaret. Etter 20 minutter i behandlingskaret, ble denne fisken håvet ut for fysiologisk prøvetaking og prosedyren ble gjentatt med en tredje fisk. På denne måten ble det sikret at alle fiskene hadde vært nøyaktig 20 minutter i hydrogenperoksidløsningen.



Figur 17 Berggyllt i behandlingskar. Behandlingskarene inneholdt stagnerende vann, og oksygen ble tilført med en slange ved behov. Foto: Reidun Bjelland

Forsøksoppsettet for hver av de fire rensefiskartene er vist i Tabell 4. Totalt ble det benyttet 461 fisker i forsøket, hvorav 168 ble avlivet for fysiologisk prøvetaking.



Tabell 4. forsøksoppsett. Tallene angir antall individer av hver art til behandling, kontroll, fysiologisk prøvetaking og adferdsstudier. Totalt antall individer i forsøket: N = 461 (20 rognkjeks ble benyttet to ganger).

Berggylt	Nullkontroll	Parallell 1		Parallell 2		Parallell 3		
Behandling	Fysiologi	Fysiologi	Adferd	Fysiologi	Adferd	Fysiologi	Adferd	Σ
Gradvis ferskvann	-	3	8	3	7	3	7	31
Kontroll FV	3	3	7	3	7	3	7	33
Hydrogenperoksid	-	3	7	3	7	3	7	30
Kontroll HP	3	3	7	3	7	3	7	33
								127

Bergnebb	Nullkontroll	Parallell 1		Parallell 2		Parallell 3		
Behandling	Fysiologi	Fysiologi	Adferd	Fysiologi	Adferd	Fysiologi	Adferd	Σ
Gradvis ferskvann	-	3	7	3	6	3	7	29
Kontroll FV	3	3	7	3	7	3	7	33
Hydrogenperoksid	-	3	7	3	7	3	7	30
Kontroll HP	3	3	5	3	5	3	5	27
								119

Grønn-gylt	Nullkontroll	Parallell 1		Parallell 2		Parallell 3		
Behandling	Fysiologi	Fysiologi	Adferd	Fysiologi	Adferd	Fysiologi	Adferd	Σ
Gradvis ferskvann	-	3	7	3	7	3	7	30
Kontroll FV	3	3	7	3	7	3	7	33
Hydrogenperoksid	-	3	7	3	7	3	7	30
Kontroll HP	3	3	8	3	7	3	7	34
								127

Rognkjeks	Nullkontroll	Parallell 1		Parallell 2		Parallell 3		
Behandling	Fysiologi	Fysiologi	Adferd	Fysiologi	Adferd	Fysiologi	Adferd	Σ
Direkte ferskvann	-	3	7	3	7	3	7	30
Kontroll FV	3	3	7	3	6	3	7	32
Hydrogenperoksid	-	3	6	3	6	3	4	25
Kontroll HP	3	3	3	3	3	3	3	21
								108

6.2 Måling av fysiske og kjemiske vannparametre

Fysiske og kjemiske vannparametre ble målt manuelt før, under og etter behandlingene fig 19. Parametrene som ble målt var temperatur, oksygenmetning, saltholdighet, pH og oksidasjons-/reduksjonspotensial.



Figur 18. Måling av oksygenmetning (til venstre) og konduktivitet/saltholdighet (til høyre) i behandlingskar med berggylter. Foto: Reidun Bjelland.

6.3 Filming av adferd

Fiskenes adferd i akklimatiseringskarene før behandlingene, i behandlingskarene under behandlingene og i bedringskarene etter behandlingene ble periodevis filmet ved hjelp av GoPro kamera. Det var kun ett kamera i hvert kar om gangen og kameraene ble montert på stativ og plassert på bunnen av karene. Kameraene ble utplassert like etter at fiskene var overført til behandlings- og bedringskarene, og mellom én firedel og halvparten av karvolumet kom med i bildet. Det ble filmet i 5–15 minutters sammenhengende perioder med ulik tid mellom opptakene. Opptakene hadde en samlet varighet på om lag 48 timer.

6.4 Fysiologisk prøvetaking

6.4.1 Bedøving

Etter utløpt eksponeringstid, ble tre fisker fra hvert av behandlingskarene håvet ut for fysiologisk prøvetaking. Fiskene ble enkeltvis overført til et plastbeger med cirka 0,6 liter bedøvelsesløsning. Bedøvelsesmidlet som ble bruk var FINQUEL. Kontrollfisker og fisker som hadde fått hydrogenperoksidbehandling, ble overført til et beger hvor bedøvelsesmidlet var blandet ut i sjøvann, mens fisker som hadde fått ferskvannsbehandling, ble overført til et beger hvor bedøvelsesmidlet var blandet ut i det avsluttende behandlingsvannet, det vil si brakkvann eller ferskvann. Fiskene var i de fleste tilfeller tilstrekkelig bedøvd etter å ha tilbragt mellom tretti sekunder og ett minutt i bedøvelsesløsningen.

6.4.2 Blodprøvetaking

Blodprøver ble tatt og analysert for ulike stressparametre (hematokritt, kortisol, glukose, laktat, natrium, kalium og klorid).

Til blodprøvetakingen ble det brukt 2-mL sprøyter, og blodprøver ble tatt ved punksjon av kaudale blodårer. Blodmengdene ble generelt små (oftest mindre enn 0,2 mL) fordi de fleste fiskene var små. I enkelte tilfeller kom det svært lite eller ikke noe blod ut ved punksjon. Det ble da foretatt en kaudal amputasjon hvor blodet som rant fra snittflaten ble samlet opp i ammoniakkhepariniserte (80 iu mL⁻¹) mikrokapillærrør. På denne måten fikk man i det minste målt hematokritt. Det ble tatt blodprøve av 168 fisker, hvorav sju ved kaudal amputasjon.

Blodprøvene ble overført direkte til 1,5-mL transparente Eppendorf®-rør på is. Fra Eppendorf-rørene ble det for måling av hematokritt fortløpende tatt subprøver av fullblod til tilsvarende mikrokapillærrør som nevnt ovenfor. På grunn av begrensede blodmengder, ble kapillærrørene i de fleste tilfeller bare fylt cirka ¼ opp for å spare blod til senere laboratorieanalyser. Kapillærrørene ble forseglest og umiddelbart sentrifugert i 3 minutter ved 13 000 rpm i en hematokrittsentrifuge. Kapillærrørene ble avlest ved å måle den totale lengden av blodlegemepluss blodplasmafraksjonen, og deretter måle lengden av kun blodlegemefraksjonen. Hematokrittverdiene ble så bestemt ved å beregne andelen blodlegemer i forhold til den opprinnelige mengden fullblod i kapillærrørene. Hematokrittverdier ble bestemt for 165 av de 168 fiskene det ble tatt blodprøve av.

Umiddelbart etter at hver hematokrittprøve var målt, ble gjenværende fullblod i Eppendorfrørene sentrifugert i 3 minutter ved 13 400 rpm. Blodplasmafraksjonen i rørene ble så pipettert over i 0,6 mL mikrosentrifugerør, fryst raskt ved hjelp av tørris og lagret i en superfryser ved -81 °C.

6.4.3 Bedring og overvåking

Etter utløpt eksponeringstid, ble sju fisker fra hvert behandlingskar overført til bedringskar for studier av adferd, appetitt og overlevelse. Umiddelbart etter overføringen ble fiskene fôret med sitt vannte fôr eller reker. Dersom de ikke spiste, ble fôringen gjentatt med cirka ti minutters mellomrom og deretter med noen timers mellomrom utover ettermiddagen (naturlig lys) og kvelden (kunstig lys). Tidspunkt for eventuelt gjenopptak av spising ble notert. Etter ett døgn i bedringskarene, ble fiskene håvet ut for veiing og måling. Deretter ble fiskene overført til 500-liters svarte, sirkulære overvåkingskar for videre overvåking. Det ble benyttet to overvåkingskar for hvert behandlingsforsøk: ett kar til behandlede fisker og ett kar til kontrollfisker. Karene ble røktet daglig, og fiskene fôret som tidligere. Fiskene ble fulgt opp i overvåkingskarene i én uke før behandlingsforsøkene ble avsluttet. Ved beregning av dødelighet etter behandlingsforsøkene, ble selvdøde fisker og fisker som måtte avlives, inkludert, mens fisker som døde fordi de hoppet ut av karene, ikke ble inkludert.

7 Del II: Resultater

7.1 Pilotforsøk med direkte ferskvann

Tabell 5 viser tidene for utholdenhet i ferskvann før «bikk» for fiskene i pilotforsøket med direkte ferskvann.

Tabell 5. Tider for utholdenhet i ferskvann før «bikk» for fiskene i pilotforsøket med direkte ferskvann

Art	Berggylte	Bergnebb	Grønnngylte	Rognkjeks
Temperatur (°C)	10,1	10,6	11,7	10,4
Oksygenmetning (%)	160	152	120	140
Fisk nr.	Tid i ferskvann			
1	00:03:32	00:03:31	00:06:44	02:00:00
2	00:14:35	00:03:45	00:06:44	02:00:00
3	00:16:29	00:04:29	00:46:59	02:00:00
4	00:16:46	00:05:01	01:01:51	02:00:00
5	00:21:08	00:05:17	01:09:12	02:00:00
6	00:26:09	00:05:19	01:16:38	02:00:00
7	00:27:30	00:07:37	01:17:24	02:00:00
8	00:27:37	00:09:31	01:24:24	02:00:00
9	00:28:32	00:14:04	01:35:45	02:00:00
10	00:30:54	00:18:24	02:00:00	02:00:00
11	00:41:41	-	02:00:00	-
12	-	-	02:00:00	-
Gjennomsnittstid	00:23:10	00:07:42	01:13:48	02:00:00

- De fem første berggyltene som ble overført fra behandlingskaret med ferskvann til bedringskaret med sjøvann etter at de hadde bikket, kviknet til umiddelbart. De øvrige seks berggyltene ble holdt noe lengre ($\frac{1}{2}$ –1 minutt) i ferskvannet etter bikk og mange av dem fortsatte å ligge på siden også etter at de var tilbakeført til sjøvann.
- Bergnebbene bikket relativt tidlig i ferskvannet, men kviknet raskt til etter tilbakeføring til sjøvann.
- Grønnngyltene holdt generelt ut lenge før de bikket i ferskvannet, men brukte også relativt lang tid på å kvikne til etter tilbakeføring til sjøvann. To av de benyttede grønnngyltene var svake allerede før forsøket ble igangsatt. De bikket tidlig i ferskvannet og fortsatte å ligge på siden også etter at de var tilbakeført til sjøvann. Disse grønnngyltene ble derfor erstattet med to andre grønnngylter som holdt ut hele behandlingstiden på to timer i ferskvannet.
- Rognkjeksene så ut til å tåle ferskvannet godt og samtlige rognkjekser holdt ut hele behandlingstiden. Rognkjeksene virket også å være i god form etter tilbakeføring til sjøvann, med unntak av to rognkjekser som tilsynelatende hadde problemer med balansen.

Tabell 6 viser dødeligheten av fisker i pilotforsøket med direkte ferskvann.

Tabell 6. Dødelighet av fisker i pilotforsøket med direkte ferskvann ($n = 43$).

Art	Antall fisker i forsøket	Antall døde fisker etter behandlingen		Dødelighet (%)
		24 timer	1 uke	
Berggylte	11	5	0	45
Bergnebb	10	0	0	0
Grønnngylte	12	3	1 ^a	33
Rognkjeks	10	0	1 ¹	10

^a avlivet; ¹ liten fisk

Det var høy dødelighet av gylter, lav dødelighet av rognkjeks og ingen dødelighet av bergnebb.

7.2 Berggylt og gradvis ferskvann

7.2.1 Under behandlingen

Under behandlingen oppholdt berggyltene seg for det meste på karbunnen.

7.2.2 Blodparametre

Tabell 7 viser blodparameterverdier for berggyltene det ble tatt fysiologiske prøver av i forsøket med gradvis ferskvann.

Tabell 7. Blodparameterverdier (gjennomsnitt $\pm$ SD) for berggyltene det ble tatt fysiologiske prøver av i forsøket med gradvis ferskvann ($n = 21$). Students *t*-test og Mann-Whitneys *U*-test av verdiene for gradvis ferskvann-gruppen mot verdiene for kontrollgruppen. ** $p = 0,01$ og *** $p < 0,001$.

Gruppe	Hematokritt (%)	Kortisol (ng mL ⁻¹)	Glukose (mmol L ⁻¹)	Laktat (mg dL ⁻¹)	Natrium (mmol L ⁻¹)	Kalium (mmol L ⁻¹)	Klorid (mmol L ⁻¹)
Nullkontroll ($n = 3$)	29 $\pm$ 6 ($n = 2$)	37 $\pm$ 38 ($n = 3$)	- ($n = 0$)	- ($n = 0$)	175 ($n = 1$)	3,4 ($n = 1$)	149 ($n = 1$)
Kontroll ($n = 9$)	22 $\pm$ 5 ($n = 9$)	236 $\pm$ 129 ($n = 9$)	2,4 ($n = 1$)	2,5 ($n = 1$)	173 $\pm$ 4 ($n = 7$)	3,1 $\pm$ 0,5 ($n = 7$)	147 $\pm$ 4 ($n = 7$)
Gradvis ferskvann ($n = 9$)	27 $\pm$ 7 ($n = 8$)	502 $\pm$ 75 ($n = 7$) ^{***1}	3,0 $\pm$ 2,1 ($n = 2$)	3,0 $\pm$ 0,4 ($n = 2$)	146 $\pm$ 32 ($n = 4$) ^{**2}	2,8 $\pm$ 0,9 ($n = 4$)	122 $\pm$ 24,3 ($n = 4$) ^{**2}

¹ $t = 4,8$; ² $U = 0,0$

For gradvis ferskvann-gruppen er den gjennomsnittlige kortisolkonsentrasjonen signifikant høyere enn for kontrollgruppen, mens de gjennomsnittlige konsentrasjonene av natrium- og kloridioner er signifikant lavere enn for kontrollgruppen.

7.2.3 Etter behandlingen

Etter behandlingen oppholdt berggyltene seg for det meste på karbunnen. Både behandlede fisker og kontrollfisker spiste umiddelbart etter overføringen til bedringskarene.

Det var ingen dødelighet av berggylter i forsøket med gradvis ferskvann (Tabell 8)

Tabell 8. Dødelighet av berggylter i forsøket med gradvis ferskvann ($n = 64$).

Behandling	Antall fisker i forsøket	Antall overvåkede fisker	Antall døde fisker etter behandlingen		Dødelighet (%)
			24 timer	1 uke	
Gradvis ferskvann	31	22	0	0	0
Kontroll	33	21	0	0	0

7.3 Berggylt og hydrogenperoksid

7.3.1 Under behandlingen

Under behandlingen oppholdt berggyltene seg for det meste samlet på karbunnen. Berggyltene endret ofte posisjon, byttet plass eller svømte korte strekninger med lav hastighet. Noen av fiskene i behandlingskarene med hydrogenperoksidløsning hadde tilsynelatende hikke. Etter hvert ble det en del ekskrementer som fløt på vannoverflata i disse karene.

7.3.2 Blodparametre

Tabell 8 viser blodparameterverdier for berggyltene det ble tatt fysiologiske prøver av i forsøket med hydrogenperoksid.

Tabell 9. Blodparameterverdier (gjennomsnitt $\pm$ SD) for berggyltene det ble tatt fysiologiske prøver av i forsøket med hydrogenperoksid ($n = 21$).

Gruppe	Hematokritt (%)	Kortisol (ng mL ⁻¹)	Glukose (mmol L ⁻¹)	Laktat (mg dL ⁻¹)	Natrium (mmol L ⁻¹)	Kalium (mmol L ⁻¹)	Klorid (mmol L ⁻¹)
Nullkontroll ($n = 3$)	23 $\pm$ 1 ($n = 3$)	39 $\pm$ 15 ($n = 3$)	2,5 $\pm$ 0,2 ($n = 2$)	7,9 $\pm$ 0,5 ($n = 2$)	172 $\pm$ 1 ($n = 3$)	3,6 $\pm$ 0,2 ($n = 3$)	146 $\pm$ 2 ($n = 3$)
Kontroll ($n = 9$)	22 $\pm$ 4 ($n = 9$)	298 $\pm$ 172 ($n = 9$)	3,1 $\pm$ 0,5 ($n = 5$)	9,9 $\pm$ 4,9 ($n = 5$)	171 $\pm$ 4 ($n = 7$)	3,3 $\pm$ 0,8 ($n = 7$)	142 $\pm$ 5 ($n = 7$)
Hydrogenperoksid ($n = 9$)	25 $\pm$ 4 ($n = 9$)	264 $\pm$ 70 ($n = 8$)	- ($n = 0$)	- ($n = 0$)	169 $\pm$ 2 ($n = 5$)	3,3 $\pm$ 0,5 ($n = 5$)	140 $\pm$ 2 ($n = 5$)

Students t-test av de målte blodparameterverdiene, avdekket ingen signifikante forskjeller mellom hydrogenperoksidgruppen og kontrollgruppen.

7.3.3 Etter behandlingen

Etter behandlingen oppholdt både behandlede fisker og kontrollfisker seg for det meste på karbunnen. Det var noe posisjonsoppretting, plassbytting og svømming. Det ble også observert snapping etter brystfinner og jaging. Noen av de behandlede fiskene hadde tilsynelatende hikke

og enkelte respirerte rask. Berggylter fra begge gruppene spiste rekebiter umiddelbart etter overføring til bedringskarene. Det var ikke flytende ekskrementer i bedringskarene. Det var ingen dødelighet av berggylter som følge av behandlingen med hydrogenperoksid (Tabell 9).

Tabell 10. Dødelighet av berggylter i forsøket med hydrogenperoksid ($n = 63$).

Behandling	Antall fisker i forsøket	Antall overvåkede fisker	Antall døde fisker etter behandlingen		Dødelighet (%)
			24 timer	1 uke	
Hydrogenperoksid	30	21	0	0	0
Kontroll	33	21	0	1	5

7.4 Bergnebb og gradvis ferskvann

7.4.1 Under behandlingen

Under behandlingen svømte bergnebbene den første tiden ganske raskt rundt i karene og frem og tilbake langs karveggene, og romsterte rundt vanninntaksrørene og ved kameraene. Etter hvert la mange av fiskene seg på karbunnen, mens øvrige fisker fortsatte å svømme rundt i karene med moderat hastighet. Bergnebbene i kontrollbehandlingskarene var mer aktive enn bergnebbene i behandlingskarene med brakkvann, og hos kontrollfiskene ble det observert snapping etter brystfinner, jaging og én bergnebb som «rotet» i karbunnen med snuten.

7.4.2 Blodparametre

Tabell 10 viser blodparameterverdier for bergnebbene det ble tatt fysiologiske prøver av i forsøket med gradvis ferskvann.

Tabell 11. Blodparameterverdier (gjennomsnitt $\pm$ SD) for bergnebb det ble tatt fysiologiske prøver av i forsøket med gradvis ferskvann ($n = 21$). Students t -test (og Mann-Whitneys U -test) av verdiene for gradvis ferskvann-gruppen mot verdiene for kontrollgruppen. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Gruppe	Hematokritt (%)	Kortisol (ng mL ⁻¹)	Glukose (mmol L ⁻¹)	Laktat (mg dL ⁻¹)	Natrium (mmol L ⁻¹)	Kalium (mmol L ⁻¹)	Klorid (mmol L ⁻¹)
Nullkontroll ($n = 3$)	26 $\pm$ 6 ($n = 3$)	104 $\pm$ 32 ($n = 3$)	2,6 ($n = 1$)	2,9 ($n = 1$)	179 $\pm$ 3 ($n = 2$)	3,1 $\pm$ 0,4 ($n = 2$)	147 $\pm$ 6 ($n = 2$)
Kontroll ($n = 9$)	23 $\pm$ 4 ($n = 9$)	394 $\pm$ 196 ($n = 9$)	1,8 $\pm$ 0,2 ($n = 4$)	2,3 $\pm$ 1,3 ($n = 4$)	179 $\pm$ 3 ($n = 8$)	3,2 $\pm$ 0,5 ($n = 8$)	143 $\pm$ 4 ($n = 8$)
Gradvis ferskvann ($n = 9$)	29 $\pm$ 2 ($n = 9$) ^{**1}	516 $\pm$ 215 ($n = 9$)	5,6 $\pm$ 3,3 ($n = 6$)	3,3 $\pm$ 1,8 ($n = 6$)	162 $\pm$ 5 ($n = 9$) ^{***2}	2,6 $\pm$ 0,4 ($n = 9$) ^{**3}	127 $\pm$ 4 ($n = 9$) ^{***4}

¹ $t = 3,8$; ² $t = 7,9$; ³ $t = 3,0$; ⁴ $t = 8,4$

For gradvis ferskvann-gruppen er den gjennomsnittlige hematokrittverdien signifikant høyere enn for kontrollgruppen, mens de gjennomsnittlige konsentrasjonene av natrium-, kalium- og kloridioner er signifikant lavere enn for kontrollgruppen.

7.4.3 Etter behandlingen

Etter behandlingen svømte de fleste behandlede fisker og kontrollfisker rundt i karene med lav eller moderat hastighet, mens noen fisker oppholdt seg på karbunnen. De behandlede fiskene

var mer aktive i bedringskarene enn i behandlingskarene. Hos kontrollfiskene ble det observert snapping etter brystfinner og jaging. De behandlede fiskene spiste ikke umiddelbart etter overføring til bedringskarene, men kontrollfiskene spiste rekebiter.

Det var ingen dødelighet av bergnebb som følge av behandlingen med gradvis ferskvann (Tabell 11).

Tabell 12. Dødelighet av bergnebb i forsøket med gradvis ferskvann ($n = 62$).

Behandling	Antall fisker i forsøket	Antall overvåkede fisker	Antall døde fisker etter behandlingen		Dødelighet (%)
			24 timer	1 uke	
Gradvis ferskvann	29	21	1 ^h	1 ^h	0
Kontroll	33	21	0	0	0

^h hoppet ut av karet

7.5 Bergnebb og hydrogenperoksid

7.5.1 Under behandlingen

Under behandlingen svømte bergnebbene den første tiden ganske raskt rundt i karene og frem og tilbake langs karveggene. Noen av bergnebbene i behandlingskarene med hydrogenperoksidløsning foretok spurter i horisontal retning, mens andre hadde utbrudd opp til vannoverflata og brøt denne. Etter hvert svømte både bergnebbene i behandlingskarene med hydrogenperoksidløsning og i kontrollbehandlingskarene saktere, og noen la seg i kortere eller lengre perioder på karbunnen. Bergnebbene i behandlingskarene med hydrogenperoksidløsning var generelt mer aktive enn bergnebbene i kontrollbehandlingskarene.

7.5.2 Blodparametre

Tabell 12 viser blodparameterverdier for bergnebbene det ble tatt fysiologiske prøver av i forsøket med hydrogenperoksid.

Tabell 13. Blodparameterverdier (gjennomsnitt $\pm$ SD) for bergnebbene det ble tatt fysiologiske prøver av i forsøket med hydrogenperoksid ($n = 21$). Students t -test av verdiene for hydrogenperoksidgruppen mot verdiene for kontrollgruppen. ** $p < 0,01$.

Gruppe	Hematokritt (%)	Kortisol (ng mL ⁻¹)	Glukose (mmol L ⁻¹)	Laktat (mg dL ⁻¹)	Natrium (mmol L ⁻¹)	Kalium (mmol L ⁻¹)	Klorid (mmol L ⁻¹)
Nullkontroll ($n = 3$)	27 $\pm$ 1 ($n = 3$)	685 $\pm$ 375 ($n = 3$)	- ($n = 0$)	- ($n = 0$)	172 $\pm$ 6 ($n = 3$)	3,2 $\pm$ 0,3 ($n = 3$)	134 $\pm$ 1 ($n = 3$)
Kontroll ($n = 9$)	28 $\pm$ 4 ($n = 9$)	511 $\pm$ 139 ($n = 8$) [§]	1,7 ($n = 1$)	1,7 ($n = 1$)	178 $\pm$ 4 ($n = 8$) [§]	3,0 $\pm$ 0,3 ($n = 8$) [§]	139 $\pm$ 8 ($n = 8$) [§]
Hydrogenperoksid ($n = 9$)	23 $\pm$ 5 ($n = 9$)	723 $\pm$ 129 ($n = 8$) ^{**1}	2,4 $\pm$ 0,3 ($n = 2$)	5,2 $\pm$ 2,2 ($n = 2$)	181 $\pm$ 4 ($n = 8$)	3,4 $\pm$ 0,5 ($n = 8$)	146 $\pm$ 6 ($n = 8$)

¹ $t = 3,2$

[§] To av plasmaprøvene fra kontrollgruppen ble ved en feiltagelse blandet etter måling av hematokritt. Den blandede prøven ble deretter delt i to prøver som ble analysert hver for seg. I den statistiske analysen ble gjennomsnittsverdien av de to prøvene behandlet som én prøve.

For hydrogenperoksidgruppen er den gjennomsnittlige kortisolkonsentrasjonen signifikant høyere enn for kontrollgruppen.

7.5.3 Etter behandlingen

Etter behandlingen var det noen bergnebb som oppholdt seg på karbunnen, noen som svømte sakte rundt i karene og noen som romsterte ved kameraene. De behandlede bergnebbene var mindre aktive i bedringskarene enn i behandlingskarene med hydrogenperoksidløsning. Både behandlede fisker og kontrollfisker spiste umiddelbart etter overføring til bedringskarene.

Det var ingen dødelighet av bergnebb som følge av behandlingen med hydrogenperoksid (Tabell 13)

Tabell 14. Dødelighet av bergnebb i forsøket med hydrogenperoksid ($n = 57$).

Behandling	Antall fisker i forsøket	Antall overvåkede fisker	Antall døde fisker etter behandlingen		Dødelighet (%)
			24 timer	1 uke	
Hydrogenperoksid	30	21	0	0	0
Kontroll	27	15	0	1 ^h	0

^h: hoppet ut av karet.

7.6 Grønnfylte og gradvis ferskvann

7.6.1 Under behandlingen

Under behandlingen romsterte grønnfyltene ved kameraene før de la seg samlet på karbunnen. Det var noe posisjonsoppretting, plassbytting og svømming med lav hastighet. I ett av behandlingkarene med brakkevann ble det observert jaging. Grønnfyltene reagerte sterkt på personer ved karene og søkte skjul ved kameraet.

7.6.2 Blodparametre

Tabell 15 viser blodparameterverdier for grønngyltene det ble tatt fysiologiske prøver av i forsøket med gradvis ferskvann.

Tabell 15. Blodparameterverdier (gjennomsnitt $\pm$ SD) for grønngyltene det ble tatt fysiologiske prøver av i forsøket med gradvis ferskvann ($n = 21$). Students t -test, og for hematokritt GLM ANCOVA med kroppsvekt som kovariat, av verdiene for gradvis ferskvann-gruppen mot verdiene for kontrollgruppen. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Gruppe	Hematokritt (%)	Kortisol (ng mL ⁻¹)	Glukose (mmol L ⁻¹)	Laktat (mg dL ⁻¹)	Natrium (mmol L ⁻¹)	Kalium (mmol L ⁻¹)	Klorid (mmol L ⁻¹)
Nullkontroll ($n = 3$)	28 $\pm$ 4 ($n = 3$)	153 $\pm$ 112 ($n = 3$)	- ($n = 0$)	- ($n = 0$)	175 $\pm$ 0 ($n = 2$)	2,9 $\pm$ 0,7 ($n = 2$)	148 $\pm$ 6 ($n = 2$)
Kontroll ($n = 9$)	29 $\pm$ 3 ($n = 9$)	249 $\pm$ 201 ($n = 9$)	2,2 $\pm$ 0,5 ($n = 5$)	5,2 $\pm$ 1,9 ($n = 5$)	177 $\pm$ 2 ($n = 5$)	2,5 $\pm$ 0,3 ($n = 5$)	148 $\pm$ 7 ($n = 5$)
Gradvis ferskvann ($n = 9$)	33 $\pm$ 5 ($n = 9$) ^{1,2}	640 $\pm$ 180 ($n = 5$) ³	0,0 ($n = 1$) ³	2,3 ($n = 1$)	162 $\pm$ 4 ($n = 3$) ⁴	2,5 $\pm$ 0,3 ($n = 3$)	144 $\pm$ 5 ($n = 3$)

¹ $t = 2,2$; ² $F = 4,6$; ³ $t = 3,6$; ⁴ $t = 7,7$

For gradvis ferskvann-gruppen er den gjennomsnittlige hematokrittverdien signifikant høyere enn for kontrollgruppen og uavhengig av kroppsvekt. Den gjennomsnittlige kortisolkonsentrasjonen er også signifikant høyere enn for kontrollgruppen. De gjennomsnittlige konsentrasjonene av glukose og natriumioner er signifikant lavere for gradvis ferskvann-gruppen enn for kontrollgruppen, men i gradvis ferskvann-gruppen er det kun én glukoseprøve.

7.6.3 Etter behandlingen

Etter behandlingen romsterte grønngyltene ved kameraene før de la seg samlet på karbunnen. I kontrollbedringskarene ble det observert jaging. De behandlede fiskene spiste ikke umiddelbart etter overføring til bedringskarene, men kontrollfiskene spiste rekebiter. Det var ingen betydelig forskjell i dødelighet mellom behandlede fisker og kontrollfisker i forsøket med gradvis ferskvann. (Tabell 16).

Tabell 16. Dødelighet av grønngylter i forsøket med gradvis ferskvann ($n = 63$).

Behandling	Antall fisker i forsøket	Antall overvåkede fisker	Antall døde fisker etter behandlingen		Dødelighet (%)
			24 timer	1 uke	
Gradvis ferskvann	30	21	0	1 ^a	5
Kontroll	33	21	0	0	0

^a avlivet

7.7 Grønnngylte og hydrogenperoksid

7.7.1 Under behandlingen

Under behandlingen svømte grønnngyltene den første tiden mye rundt i karene med lav hastighet og romsterte ved kameraene. Etter hvert ble grønnngyltene mindre aktive og lå for det meste samlet på karbunnen. I ett av kontrollbehandlingskarene svømte én grønnngylte tidvis sidelengs og virket syk. Grønnngyltene reagerte sterkt på personer ved karene og søkte skjul ved kameraene.

7.7.2 Blodparametre

Tabell 17 viser blodparameterverdier for grønnngyltene det ble tatt fysiologiske prøver av i forsøket med hydrogenperoksid.

Tabell 17. Blodparameterverdier (gjennomsnitt $\pm$ SD) for grønnngyltene det ble tatt fysiologiske prøver av i forsøket med hydrogenperoksid ($n = 21$). Students t -test (og Mann-Whitneys U -test og for hematokritt GLM ANCOVA med kroppsvekt som kovariat) av verdiene for hydrogenperoksidgruppen mot verdiene for kontrollgruppen. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Gruppe	Hematokritt (%)	Kortisol (ng mL ⁻¹)	Glukose (mmol L ⁻¹)	Laktat (mg dL ⁻¹)	Natrium (mmol L ⁻¹)	Kalium (mmol L ⁻¹)	Klorid (mmol L ⁻¹)
Nullkontroll ($n = 3$)	29 $\pm$ 4 ($n = 3$)	397 $\pm$ 137 ($n = 3$)	2,5 ($n = 1$)	8,2 ($n = 1$)	180 $\pm$ 3 ($n = 3$)	3,0 $\pm$ 0,3 ($n = 3$)	163 $\pm$ 5 ($n = 3$)
Kontroll ($n = 9$)	24 $\pm$ 8 ($n = 8$)	138 $\pm$ 94 ($n = 7$)	3,5 ($n = 1$)	6,7 ($n = 1$)	178 ($n = 1$)	2,7 ($n = 1$)	163 ($n = 1$)
Hydrogenperoksid ($n = 9$)	28 $\pm$ 3 ($n = 9$)	338 $\pm$ 133 ($n = 8$)** ¹	2,4 $\pm$ 0,3 ($n = 4$) ¹	5,4 $\pm$ 2,0 ($n = 5$)	184 $\pm$ 11 ($n = 4$)	3,0 $\pm$ 0,8 ($n = 4$)	169 $\pm$ 14 ($n = 4$)

¹ $t = 3,3$

For hydrogenperoksidgruppen er den gjennomsnittlige kortisolkonsentrasjonen signifikant høyere enn for kontrollgruppen. Den gjennomsnittlige glukosekonsentrasjonen er signifikant lavere enn for kontrollgruppen, men det er kun én verdi i kontrollgruppen.

7.7.3 Etter behandlingen

Etter behandlingen oppholdt grønnngyltene seg for det meste på karbunnen, ofte i skjul bak hverandre eller kameraene. Noen grønnngylter svømte sakte rundt i karene og romsterte ved kameraene. Blant kontrollfiskene ble det observert jaging. Hverken de behandlede fiskene eller kontrollfiskene spiste umiddelbart etter overføring til bedringskarene, men kontrollfiskene begynte å spise tidligere enn de behandlede fiskene. Det var ingen dødelighet av grønnngylter som følge av behandlingen med hydrogenperoksid (Tabell 18).

Tabell 18. Dødelighet av grønnngylter i forsøket med hydrogenperoksid ($n = 64$).

Behandling	Antall fisker i forsøket	Antall overvåkede fisker	Antall døde fisker etter behandlingen		Dødelighet (%)
			24 timer	1 uke	
Hydrogenperoksid	30	21	0	0	0
Kontroll	34	22	1	1	9

7.8 Rognkjeks og direkte ferskvann

7.8.1 Under behandlingen

Under behandlingen svømte de fleste rognkjeksene den første tiden ganske raskt rundt i karene. Noen av rognkjeksene i behandlingskarene med ferskvann svømte oppetter karveggene og like under vannoverflata. Deretter festet de fleste rognkjeksene seg på karbunnen og karveggene både i behandlingskarene med ferskvann og i kontrollbehandlingskarene. I behandlingskarene med ferskvann la noen fisker seg til ulike tidspunkt på siden på karbunnen, enkelte ganger avvekslet av sidelengs svømming. Rognkjeksene i behandlingskarene med ferskvann hypersekreterte slim, og det hang slimtråder fra finnene og beinknutene til flere av rognkjeksene. Det var en stadig økende slimmengde i karene, og etter behandlingen var ferskvannet så fullt av slim at den finmaskede håven nesten tetnet.

7.8.2 Blodparametre

Tabell 19 viser blodparameterverdier for rognkjeksene det ble tatt fysiologiske prøver av i forsøket med direkte ferskvann.

Tabell 19. Blodparameterverdier (gjennomsnitt $\pm$ SD) for rognkjeksene det ble tatt fysiologiske prøver av i forsøket med direkte ferskvann ($n = 21$). Students t -test og Mann-Whitney U -test av verdiene for direkte **ferskvann-gruppen mot verdiene for kontrollgruppen**. *** $p < 0,001$.

Gruppe	Hematokritt (%)	Kortisol (ng mL ⁻¹)	Glukose (mmol L ⁻¹)	Laktat (mg dL ⁻¹)	Natrium (mmol L ⁻¹)	Kalium (mmol L ⁻¹)	Klorid (mmol L ⁻¹)
Nullkontroll ($n = 3$)	16 $\pm$ 3 ($n = 3$)	16 $\pm$ 13 ($n = 3$)	1,3 $\pm$ 0,1 ($n = 2$)	1,7 $\pm$ 2,3 ($n = 2$)	166 $\pm$ 4 ($n = 3$)	4,4 $\pm$ 0,2 ($n = 3$)	149 $\pm$ 5 ($n = 3$)
Kontroll ($n = 9$)	19 $\pm$ 3 ($n = 9$)	53 $\pm$ 6 ($n = 9$)	1,6 $\pm$ 0,2 ($n = 7$)	0,8 $\pm$ 0,8 ($n = 7$)	162 $\pm$ 17 ($n = 9$)	4,0 $\pm$ 1,1 ($n = 9$)	144 $\pm$ 16 ($n = 9$)
Direkte ferskvann ($n = 9$)	26 $\pm$ 4 ($n = 9$) ^{***1}	91 $\pm$ 29 ($n = 9$) ^{***2}	- ($n = 0$)	- ($n = 0$)	139 $\pm$ 5 ($n = 6$) ³	4,1 $\pm$ 0,7 ($n = 6$)	116 $\pm$ 6 ($n = 6$) ³

¹ $t = 4,4$; ² $U = 1,5$; ³ $U = 6,0$

For direkte ferskvann-gruppen var den gjennomsnittlige hematokrittverdien og kortisolkonsentrasjonen signifikant høyere enn for kontrollgruppen, mens de gjennomsnittlige konsentrasjonene av natrium- og kloridioner var signifikant lavere enn for kontrollgruppen.

7.8.3 Etter behandlingen

Etter behandlingen festet noen rognkjeks seg på karbunnen eller karveggene, mens andre svømte sakte rundt i karene. De behandlede fiskene virket medtatte, mens kontrollfiskene var mer aktive og oppvakte. Det hang slimtråder fra finnene og beinknutene til enkelte av de behandlede fiskene, og minst tre av de behandlede fiskene lå på siden på karbunnen. Verken de behandlede fiskene eller kontrollfiskene spiste pletter umiddelbart etter overføring til bedringskarene, men kontrollfiskene gjenopptok spising raskere enn de behandlede fiskene.

Det var en betydelig forskjell i dødelighet mellom behandlede fisker og kontrollfisker i forsøket med direkte ferskvann (Tabell 20).

Tabell 20. Dødelighet av rognkjeks i forsøket med direkte ferskvann ($n = 62$).

Behandling	Antall fisker i forsøket	Antall overvåkede fisker	Antall døde fisker etter behandlingen		Dødelighet (%)
			24 timer	1 uke	
Direkte ferskvann	30	21	0	10 [#]	48
Kontroll	32	20	0	0	0

[#] 11 rognkjeks etter åtte dager.

7.9 Rognkjeks og hydrogenperoksid

7.9.1 Under behandlingen

Under behandlingen svømte rognkjeksene den første tiden ganske raskt rundt i karene og romsterte ved kameraene. Noen av rognkjeksene i behandlingskarene med hydrogenperoksidløsning foretok spurter. Etter hvert avtok svømmehastigheten, og noen av rognkjeksene i behandlingskarene med hydrogenperoksidløsning og de fleste rognkjeksene i kontrollbehandlingskarene festet seg på karbunnen og karveggene. Én av rognkjeksene i ett av behandlingskarene med hydrogenperoksidløsning hadde en tendens til å bikke når den tidvis la seg på karbunnen. Like før det var gått 20 minutter, ble den liggende på siden på karbunnen og respirere kraftig. Rognkjeksene i behandlingskarene med hydrogenperoksidløsning hypersekreterte slim, men ikke like mye som i forsøket med direkte ferskvann.

7.9.2 Blodparametre

Tabell 21 viser blodparameterverdier for rognkjeksene det ble tatt fysiologiske prøver av i forsøket med hydrogenperoksid.

Tabell 21. Blodparameterverdier (gjennomsnitt $\pm$ SD) for rognkjeksene det ble tatt fysiologiske prøver av i forsøket med hydrogenperoksid ($n = 21$).

Gruppe	Hematokritt (%)	Kortisol (ng mL ⁻¹)	Glukose (mmol L ⁻¹)	Laktat (mg dL ⁻¹)	Natrium (mmol L ⁻¹)	Kalium (mmol L ⁻¹)	Klorid (mmol L ⁻¹)
Nullkontroll ($n = 3$)	17 $\pm$ 3 ($n = 3$)	39 $\pm$ 27 ($n = 3$)	0,6 $\pm$ 0,0 ($n = 2$)	1,1 $\pm$ 1,4 ($n = 2$)	176 $\pm$ 8 ($n = 3$)	4,4 $\pm$ 0,6 ($n = 3$)	155 $\pm$ 3 ($n = 3$)
Kontroll ($n = 9$)	20 $\pm$ 3 ($n = 9$)	52 $\pm$ 16 ($n = 9$)	1,5 $\pm$ 0,2 ($n = 4$)	2,1 $\pm$ 0,3 ($n = 4$)	170 $\pm$ 2 ($n = 6$)	4,2 $\pm$ 0,8 ($n = 6$)	148 $\pm$ 2 ($n = 6$)
Hydrogenperoksid ($n = 9$)	19 $\pm$ 3 ($n = 9$)	56 $\pm$ 23 ($n = 9$)	1,2 $\pm$ 0,0 ($n = 2$)	1,5 $\pm$ 0,2 ($n = 2$)	172 $\pm$ 3 ($n = 5$)	4,7 $\pm$ 0,6 ($n = 5$)	146 $\pm$ 4 ($n = 5$)

Students t-test av de målte blodparameterverdiene, avdekket ingen signifikante forskjeller mellom hydrogenperoksidgruppen og kontrollgruppen.

7.9.3 Etter behandlingen

Etter behandlingen svømte rognkjeksene den første tiden med ganske lav hastighet rundt i karene og romsterte ved kameraene. Deretter festet de seg på karbunnen eller utenfor kameraenes synsfelt. De behandlede fiskene var mer aktive enn kontrollfiskene. Én av de behandlede fiskene lå fortsatt på siden på karbunnen og respirerte kraftig. Noen av de behandlede fiskene hadde slimklumper hengende fra finner og beinknuter, og det var slimfiller i vannet. Hverken behandlede fisker eller kontrollfisker spiste pelleter umiddelbart etter overføring til bedringskarene, men kontrollfiskene begynte å spise tidligere enn de behandlede fiskene. Det var ingen betydelig forskjell i dødelighet mellom behandlede fisker og kontrollfisker i forsøket med hydrogenperoksid (Tabell 22).

Tabell 22. Dødelighet av rognkjeks i forsøket med hydrogenperoksid ($n = 46$).

Behandling	Antall fisker i forsøket	Antall overvåkede fisker	Antall døde fisker etter behandlingen		Dødelighet (%)
			24 timer	1 uke	
Hydrogenperoksid	25	16	1	1 ^a	13
Kontroll	21	9	0	0	0

^a: avlivet.

8 Del II: Diskusjon

8.1 Pilotforsøk

I pilotforsøket hvor alle de fire rensefiskartene ble overført direkte til ferskvann, holdt berggyltene og bergnebbene i gjennomsnitt ut kortest tid i ferskvannet før bikk. Grønnngyltene holdt ut noe lengre, mens rognkjeksene holdt ut hele behandlingsperioden på 2 timer. Siden de fleste fisker har en fysiologisk saltholdighet på $S = 9$ og få fisker er isoosmotiske med vannet de lever i, vil det som regel være osmotiske gradienter over fiskenes permeable overflater (hovedsakelig gjellene). I sjøvann er fiskene hypoosmotiske sammenliknet med omgivelsene, noe som fører til at fiskene passivt dehydreres (Bone & Moore 2008). For å kompensere for dette, drikker fiskene sjøvann. I tarmene foregår det et aktivt opptak av ioner slik at vannmolekyler kan absorberes over tarmveggene, hvorpå de absorberte ionene skilles ut ved aktiv transport over gjellene (Na^+ og Cl^-) og nyrene (Mg^{2+} , Ca^{2+} og SO_4^{2-}). I ferskvann er fiskene hyperosmotiske sammenliknet med omgivelsene, og fiskene må derfor kompensere for en osmotisk drevet innfluks av vann samtidig som de mister ioner til omgivelsene over gjellene (Bone & Moore 2008). Dette reguleres blant annet ved ekskresjon av store mengder fortynnet urin, bevaring av ioner og et aktivt opptak av ioner over gjeller og tarmer. At rognkjeksene holdt ut lengre enn leppefiskene i ferskvannet i pilotforsøket, kan muligens ha sammenheng med at rognkjeks har klumpete kroppsfasong, tykk hud og relativt små gjeller, noe som kan tenkes å redusere osmotisk fluks. De undersøkte rensefiskenes geografiske utbredelse (Quignard & Pras 1986, Pethon 1998) indikerer også at rognkjeks har bedre toleranse enn leppefisker for lavsaltholdighetsvann, ettersom rognkjeks for eksempel forekommer i Østersjøen hvor vannet er brakt og sted-/tidvis har svært lav saltholdighet (Samuelsson 1996).

Noen dager etter pilotforsøket utviklet det seg finneråte på flere av grønnngyltene i overvåkingskarer. Finneråte forårsakes av opportunistiske bakterier som *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Tenacibaculum* spp. og *Vibrio* spp. som florerer i alle akvatiske miljøer (Mahoney *et al.* 1973, Khan *et al.* 1981, Nilsen *et al.* 2014). Utviklingen av finneråte kan være et tegn på at grønnngyltenes immunforsvar var svekket. Etter pilotforsøket var det høy dødelighet av berggylter (45 %) og grønnngylter (33 %), lav dødelighet av rognkjeks (10 %) og ingen dødelighet av bergnebb. To av grønnngyltene som døde etter pilotforsøket, var svake allerede før forsøket ble igangsatt.

8.2 Direkte ferskvann

På grunnlag av resultatene fra pilotforsøket, ble behandling med direkte ferskvann kun testet på rognkjeks.

8.2.1 Adferd i behandlingskar

Under behandlingen med direkte ferskvann, festet de fleste rognkjeksene seg på karbunnen og karveggene, mens enkelte la seg på siden på karbunnen og hadde tydeligvis problemer.

Rognkjeksene i behandlingskarene med ferskvann hypersekreterte slim, muligens som følge av hydrering av det sjøvannsstabile slimlaget (Roberts & Powell 2003, Roberts & Powell 2008). Slim inneholder polyanioniske glykoproteiner som har høy bindingsaffinitet for divalente kationer (Zuchelkowski *et al.* 1985, Gupta 1989). Slimets fysiske karakteristikk er derfor sterkt avhengige av ionesammensetningen i behandlingsvannet (Gupta 1989). I vann med lav konsentrasjon av kationer, kan slimet bli mer hydrert og dermed mindre viskøst. Dette kan føre til at slimet renner av fiskene og at de derfor produserer mer slim. Økt sekresjon av slim kan bidra til å fjerne parasitter som *P. perurans* (Powell & Perry 1997, Zilberg & Munday 2000, Roberts & Powell 2003). På den annen side kan en forstyrrelse av slimlaget gjøre fiskene mer utsatte for infeksjoner en tid etter behandling, fordi slimlaget utgjør en førstebARRIERE mot inntrenging av patogener fra miljøet.

8.2.2 Blodparametre

Den gjennomsnittlige hematokrittverdien og kortisolkonsentrasjonen i blodplasma var signifikant høyere hos behandlede fisker enn hos kontrollfisker, mens de gjennomsnittlige konsentrasjonene av natrium- og kloridioner var signifikant lavere. For marine fisker vil en overgang fra sjøvann til lavsaltholdighetsvann kreve en osmoregulatorisk omstilling. Dersom fiskene ikke er i stand til en slik omstilling, vil det forventes at de får problemer som følge av en osmotisk drevet innfluks av vann og en utfluks av ioner. Stressinduserte økninger i respirasjonsfrekvens, blodstrøm og gjellepermeabilitet (Pickering 1981, Bonga 1997, Iwama 1998, Mommsen *et al.* 1999) kan øke disse fluksene ytterligere. De signifikant høyere kortisol- og lavere ionekonsentrasjonene hos behandlede fisker enn hos kontrollfisker, kan tyde på at ferskvannsbehandlingen stresset fiskene og forstyrret fiskenes ionebalanse.

En rekke forsøk har vist at akutt stress øker hematokrittverdien hos fisker (Soivio & Oikari 1976, Wells *et al.* 1984, Biron & Benfey 1994, Suski *et al.* 2007, Olsen *et al.* 2008). En økning i hematokrittverdi kan være en strategi for å øke blodets kapasitet til å frakte oksygen under forhold hvor energibehovet er stort (Eslamloo *et al.* 2014). Hos mange fisker kontraherer milten under akutt stress (Pearson & Stevens 1991, Bonga 1997, Ruane *et al.* 2000). Dette frigjør blodlegemer ut i sirkulasjonen og kan forklare økningen i hematokrittverdi. En økning i hematokrittverdi kan også skyldes en økning i intracellulær og/eller en reduksjon i ekstracellulær væskemengde (Milligan & Wood 1982). For marine fisker i ferskvann forventes en innfluks av vann å føre til en økning i både intracellulær og ekstracellulær væskemengde. Det er uvisst hva slags utslag dette eventuelt har gitt på hematokrittverdiene i denne studien, men det kan ha hatt betydning ettersom det bare var signifikante forskjeller i hematokrittverdier mellom behandlede fisker og kontrollfisker i ferskvannsbehandlingene og ikke i hydrogenperoksidbehandlingene.

8.2.3 Adferd og appetitt i bedringskar

I bedringskarene etter behandlingen virket de ferskvannsbehandlede fiskene medtatte, mens kontrollfiskene var mer aktive og oppvakte. Hverken de behandlede fiskene eller kontrollfiskene spiste umiddelbart etter overføring til bedringskarene, men kontrollfiskene

begynte å spise tidligere enn de behandlede fiskene. Undertrykt appetitt er en vanlig observasjon hos fisker som følge av stress (McCormick et al. 1998, Bernier & Craig 2005, Bernier 2006, Pankhurst et al. 2008) og kan skyldes CRH-relaterte peptider med anoreksigen effekt (Bernier & Peter 2001, Crespi & Denver 2004). Kortisol er også rapportert å undertrykke appetitt (Bernier 2006). Den manglende appetitten etter behandlingen kan derfor tyde på at rognkjeks i begge gruppene ble stresset av å bli overført mellom kar, men at ferskvannsbehandlingen påførte de behandlede fiskene ekstra stress. Dette stemmer overens med blodparameterverdiene.

8.2.4 Dødelighet

Dødeligheten av rognkjeks innen én uke etter behandlingen var svært høy (48 % mot 0 % i kontrollgruppen). Dette var overraskende ettersom rognkjeksene i pilotforsøket så ut til å tåle tilsvarende behandling godt. Årsaken til de inkonsekvente resultatene er ukjent.

8.3 Gradvis ferskvann

Behandling med gradvis ferskvann ble kun testet på leppefisk.

8.3.1 Adferd i behandlingskar

Under behandlingen med gradvis ferskvann, lå berggyltene hovedsakelig på karbunnen både i behandlingskarene med brakkvann og i kontrollbehandlingskarene med sjøvann, og det ble ikke observert adferdsendringer blant disse fiskene. For bergnebb og grønngylt så det imidlertid ut til at fiskene i behandlingskarene med brakkvann ble mindre aktive og hvilte mer på karbunnen enn kontrollfiskene etter hvert som saltholdigheten ble redusert. Tilsvarende adferdsendring er tidligere observert hos torsk ved redusert saltholdighet (Odense *et al.* 1966). Adferdsendringer er et dyrs førstelinjeforsvar mot miljøforandringer, predatorer og sosiale konflikter, og kan være sensitive indikatorer på biokjemiske og fysiologiske endringer som følge av stress (Beitinger 1990, Scherer 1992, Schreck *et al.* 1997, Gytte 2004). Å holde seg i ro kan være en god strategi for marine fisker i lavsaltholdighetsvann, fordi fysisk aktivitet vil føre til økt oksygenbehov, hjerterefrekvens og respirasjonsfrekvens, som igjen vil øke det osmotiske tapet over gjellene.

8.3.2 Blodparametre

De gjennomsnittlige hematokrittverdiene var høyere hos behandlede fisker enn hos kontrollfisker, signifikant høyere for bergnebb og grønngylt, men ikke for berggylt. De høyere hematokrittverdiene kan skyldes de samme forholdene som i behandlingsforsøket med rognkjeks og direkte ferskvann. De gjennomsnittlige kortisolkonsentrasjonene i blodplasma var også høyere hos behandlede fisker enn hos kontrollfisker, signifikant høyere for berggylt og grønngylt. Økningen var ikke signifikant for bergnebb, men det kan ha sammenheng med at kortisolkonsentrasjonene for bergnebb var høye både hos behandlede fisker og hos kontrollfisker i forhold til hos nullkontrollene. De høye kortisolkonsentrasjonene antyder at leppefiskene var stresset i behandlingskarene med lav saltholdighet. Leclercq *et al.* (2014) utsatte juvenile, oppdrettede berggylter for ett minutt lufteksponering og fant at

kortisolkonsentrasjonene i blodplasma økte fra $60,8 \pm 5,5 \text{ ng mL}^{-1}$ til $284,3 \pm 26,7 \text{ ng mL}^{-1}$ etter 30 minutter. Disse konsentrasjonene er i overensstemmelse med de gjennomsnittlige konsentrasjonene hos nullkontrollene ($37 \pm 38 \text{ ng mL}^{-1}$) og kontrollene ($236 \pm 129 \text{ ng mL}^{-1}$) av berggylter i denne studien, men lavere enn målt hos de behandlede berggyltene (gjennomsnittlig $502 \pm 75 \text{ ng mL}^{-1}$). Kortisolkonsentrasjoner er imidlertid påvirket av en rekke modifierende faktorer og kan variere intraspesifikt (Woodward & Strange 1987, Pottinger *et al.* 1992, Pottinger & Moran 1993, Tort *et al.* 2001), noe som vanskeliggjør sammenlikninger.

For grønngylte var den gjennomsnittlige glukosekonsentrasjonen i blodplasma signifikant lavere hos behandlede fisker enn hos kontrollfisker, men ettersom det kun var én glukoseprøve fra behandlede fisker, kan dette resultatet være tilfeldig. Stress fører til flere energikrevende prosesser, og glukose fungerer som et lett tilgjengelig energisubstrat for å dekke det økte energibehovet i vev som hjerne, gjeller og muskler. Under en stressrespons vil stresshormoner som adrenalin og kortisol initiere sekundære fysiologiske responser som blant annet øker glukoseproduksjonen gjennom glykogenolyse og glukoneogenese og fører til at konsentrasjonen av glukose i sirkulasjonen øker (Wendt & Saunders 1973, Wedemeyer *et al.* 1990, Iwama 1998). For samtlige av leppefiskartene var det signifikant lavere gjennomsnittlige konsentrasjoner av én eller flere av de målte ionene (natrium, kalium og klorid) i blodplasma hos behandlede fisker enn hos kontrollfisker. De lavere konsentrasjonene indikerer at behandlingen forstyrret leppefiskenes ionebalanse.

8.3.3 Adferd og appetitt i bedringskar

Etter overføring til bedringskarene, var adferden hos de behandlede leppefiskene tilsvarende som hos de respektive kontrollfiskene. Hos berggyltene startet spiseaktiviteten opp umiddelbart både hos behandlede fisker og kontrollfisker. Dette var noe overraskende ettersom blodparameterverdiene antydte at de behandlede fiskene var mer stresset enn kontrollfiskene. Behandlede bergnebb og grønngylter hadde ikke appetitt umiddelbart etter overføringen, men kontrollfiskene spiste. Dette kan skyldes stress i forbindelse med behandlingen og/eller at de behandlede fiskene trengte noe tid på osmoregulatorisk omstilling tilbake til sjøvann.

8.3.4 Dødelighet

Etter behandlingen med gradvis ferskvann, måtte én av de behandlede grønngyltene avlives. Grønngylten ble funnet sideliggende i overvåkingskaret to dager etter behandlingen, uten at det tidligere var observert kliniske sykdomstegn eller spesielle problemer som følge av behandlingen hos denne fisken. For øvrig var det ingen dødelighet av behandlede fisker eller kontrollfisker. Behandling med gradvis ferskvann ble ikke testet på rognkjeks. Rognkjeks var imidlertid den av de undersøkte rensefiskartene som best taklet en overgang til direkte ferskvann i pilotforsøket. Ved behandling av laks og kohabiterende rensefisker (deriblant rognkjeks) med gradvis tilsetning av ferskvann i presenningkledte sjømerder ved forskningsstasjonen høsten 2014, ble det ikke registrert noen dødelighet av kohabiterende rensefisker. Det virker derfor rimelig å anta at også rognkjeks tåler behandling med gradvis ferskvann.



Figur 19. Ferskvannsbehandling av laks og kohabiterende rensefisker ved Havforskningsinstituttets Forskningsstasjon, Austevoll 27.10.2014. Foto: Lene Moltumyr

8.4 Hydrogenperoksid

8.4.1 Adferd i behandlingskar

Under behandlingen med hydrogenperoksid lå berggyltene hovedsakelig på karbunnen både i behandlingskarene med hydrogenperoksidløsning og i kontrollbehandlingskarene. Hos bergnebb og rognkjeks ble det observert spurter i horisontal retning like etter overføring til behandlingskarene med hydrogenperoksidløsning, og noen bergnebb hadde utbrudd opp til vannoverflata og brøt denne. Slik adferd kan tyde på ubehag ved å være i hydrogenperoksidløsningen. Hydrogenperoksid danner hydroksylradikaler ($\bullet\text{OH}$) som mellomprodukter før dissosiasjon til vann og oksyngengass. Hydroksylradikalene er sterkt oksiderende og høyt reaktive og kan forårsake skade på fiskenes hud, øyne og gjeller (Kierner & Black 1997, Powell & Perry 1997, Hytterød et al. 2017). Hos samtlige arter med unntak av bergnebb, var fiskene i behandlingskarene med hydrogenperoksidløsning generelt mer aktive enn fiskene i kontrollbehandlingskarene. Én av rognkjeksene ble etter hvert liggende på siden på karbunnen, noe som kan være et tegn på overdosering (Akzo Nobel 2016).

Både under og etter behandlingen med hydrogenperoksid ble det observert «hikke» hos noen av de behandlede berggyltene. Dette kan ha vært reaksjoner i svelg eller tegn på gjelleirritasjon. I behandlingskarene med berggylter og hydrogenperoksidløsning ble det etter hvert en del

ekskrementer som fløt på vannoverflata. Videoene viste at ekskrementene først la seg på karbunnen, men fløt opp til vannoverflata etter å ha ligget et par minutter i hydrogenperoksidløsningen. Hydrogenperoksidløsningen trekker trolig inn i ekskrementene på samme måte som vann. Under innflytelse av en katalysator, spaltes hydrogenperoksid til vann og oksyngengass. Dersom dette skjer på overflata av eller inni ekskrementene, kan det muligens dannes gassbobler som gir ekskrementene oppdrift. Slike gassbobler er funnet i lakselus (særlig i tarmen) under avlusing med hydrogenperoksid (Horsberg 2000). Rognkjeksene i behandlingskarene med hydrogenperoksidløsning hypersekreterte slim, men ikke like mye som i behandlingskarene med ferskvann. Hydrogenperoksid har patofysiologiske effekter på gjellevev hos fisker (Kierner & Black 1997, Hytterød *et al.* 2017) og kan forårsake gjelleirritasjon og stimulere slimsekresjon (Powell & Perry 1997). Hydrogenperoksid kan også degradere glykoproteinene i slimet (Creeth *et al.* 1983, Cooper *et al.* 1985).

8.4.2 Blodparametre

Hos behandlede bergnebb og grønnngylter var de gjennomsnittlige konsentrasjonene av kortisol i blodplasma signifikant høyere enn hos kontrollfisker, noe som antyder at fiskene var mer stresset i hydrogenperoksidløsningen enn i sjøvann. For grønnngylter var i tillegg den gjennomsnittlige blodplasmakonsentrasjonen av glukose signifikant lavere hos behandlede fisker enn hos kontrollfisker. Dette resultatet kan være tilfeldig fordi det kun var én glukoseprøve i kontrollgruppen. For bergngylt ble det ikke funnet noen signifikante forskjeller i blodparameterverdier mellom behandlede fisker og kontrollfisker. De gjennomsnittlige konsentrasjonene av kortisol i blodplasma hos behandlede fisker ($264 \pm 70 \text{ ng mL}^{-1}$) og kontrollfisker ($298 \pm 172 \text{ ng mL}^{-1}$) var betydelig høyere enn hos nullkontrollene ($39 \pm 15 \text{ ng mL}^{-1}$). Heller ikke for rognkjeks ble det ikke funnet noen signifikante forskjeller i blodparameterverdier mellom behandlede fisker og kontrollfisker. Det kan tenkes at noen av de målte blodparametrene ikke er egnede stressindikatorer for rognkjeks. Rognkjeksene hadde gjennomgående lavere gjennomsnittlige verdier for hematokritt, lavere gjennomsnittlige konsentrasjoner av kortisol, glukose og laktat, og høyere gjennomsnittlige konsentrasjoner av kaliumioner enn leppefiskene både i behandlingsforsøkene med ferskvann og hydrogenperoksid. En annen mulighet er at rognkjeksenes tykke hud og små gjeller gjør dem relativt motstandsdyktige overfor hydrogenperoksid. At én av rognkjeksene etter hvert ble liggende på siden på karbunnen i ett av behandlingskarene, indikerer imidlertid at rognkjeksene ikke var upåvirkede av å være i hydrogenperoksidløsningen.

At det i forsøkene med hydrogenperoksid ikke var noen signifikante forskjeller i blodplasmakonsentrasjonene av målte ioner mellom behandlede fisker og kontrollfisker, kan indikere at hydrogenperoksidløsningen ikke forårsaket alvorlige skader på hud og gjeller. Slike skader ville i sjøvann kunne ha forårsaket økt utfluks av vann og økt innfluks av ioner. En histologisk undersøkelse av de innsamlede vevsprøvene, ville kunne ha påvist eventuelle skader.

8.4.3 Adferd og appetitt i bedringskar

Etter behandlingen med hydrogenperoksid, hadde de behandlede leppefiskene tilsvarende adferd i bedringskarene som kontrollfiskene av respektiv art. De behandlede rognkjeksene var imidlertid mer aktive enn kontrollfiskene, og én av de behandlede rognkjeksene lå fremdeles på siden på karbunnen. Tegn til uro er en vanlig bivirkning hos fisker etter behandling med hydrogenperoksid (Akzo Nobel 2016). Etter overføring av berggylter og bergnebbber til bedringskarene, hadde både behandlede fisker og kontrollfisker appetitt umiddelbart. Hos grønnngyltene og rognkjeksene spiste hverken de behandlede fiskene eller kontrollfiskene umiddelbart etter overføring til bedringskarene, men kontrollfiskene begynte å spise tidligere enn de behandlede fiskene. Dette tyder på at grønnngyltene og rognkjeksene ble stresset av å bli overført mellom kar, og at behandlingen påførte fiskene en tilleggsbelastning. Dårlig appetitt er en vanlig bivirkning etter behandling med hydrogenperoksid (Akzo Nobel 2016).

8.4.4 Dødelighet

Behandling med hydrogenperoksid førte til at én rognkjeks døde og at én rognkjeks måtte avlives. Rognkjeks som døde, ble dårlig i hydrogenperoksidløsningen under behandlingen og ble deretter liggende på siden på karbunnen og respirere kraftig til den døde dagen etter. Rognkjeks som måtte avlives, ble funnet sideliggende i overvåkingskaret tre dager etter behandlingen. Denne fisken var liten (kroppsvekt: 5,1 gram; kroppslengde: 5,4 cm; kondisjonsfaktor: 3,2). For øvrig var det ingen dødelighet av behandlede fisker. Fiskers toleranse for badebehandlinger avhenger av vanntemperatur, konsentrasjon av behandlingsmiddel og eksponeringstid (Johnson *et al.* 1993, Thomassen 1993, Kierner & Black 1997, Rach *et al.* 1997, Gaikowski *et al.* 1999, Powell & Clark 2004, Hytterød *et al.* 2017). Ved bruk av hydrogenperoksid, er vanntemperatur spesielt viktig fordi hydrogenperoksid har liten sikkerhetsmargin mellom terapeutisk og skadelig dose som blir mindre med økende vanntemperatur (Thomassen 1993, Bruno & Raynard 1994, Rach *et al.* 1997). Hydrogenperoksid må brukes med forsiktighet ved vanntemperaturer mellom 14 og 18 °C, og skal ikke brukes ved vanntemperaturer ≥ 18 °C (Akzo Nobel 2016). Når det gjelder konsentrasjon og eksponeringstid, fant Hytterød *et al.* (2017) at både eksponering for hydrogenperoksidkonsentrasjoner over 1 400 ppm og behandling med hydrogenperoksid i mer enn 20 minutter ga negative effekter på laks, særlig ved vanntemperaturer over 12 °C. De anbefalte derfor en konsentrasjon på 1 200 ppm aktiv substans og en maksimal eksponeringstid på 20 minutter ved bruk av hydrogenperoksid til behandling av laks mot AGD. Rensefiskene i denne studien ble håndtert skånsomt og hadde anledning til å ligge uforstyrret på karbunnen og hente seg inn etter behandlingene. Under badebehandlinger av fisker i merder og brønnbåter, oppstår det en rekke stressfulle situasjoner og risiko for mekanisk skade og skadelige endringer i vannkvalitet. Stress, skader og andre fysiologiske belastninger vil kunne svekke fiskene og gjøre dem mer mottakelige for patogener i noe tid etter behandlingene. Dette er det viktig å ta hensyn til for å bedre rensefiskenes overlevelse, helse og velferd i forbindelse med badebehandlinger i kommersielle oppdrettsanlegg.



9 Del II: Konklusjon

Hovedfunnene i studien var:

- Verken berggylt, bergnebb eller grønngylt tålte direkte overføring til ferskvann med påfølgende 2 timers opphold i ferskvannet ($S < 0,5$; $T \sim 12\text{ °C}$). For rognkjeks var resultatene ikke entydige.
- Alle de undersøkte leppefiskartene tålte 2 timers gradvis reduksjon i saltholdighet med påfølgende 2 timers opphold i lavsaltholdighetsvann ($S = 2,4\text{--}3,0\text{‰}$; $T \sim 12\text{ °C}$), men fiskene ble stresset og fikk redusert konsentrasjon av ioner i blodplasma. (Denne behandlingen ble ikke testet på rognkjeks.)
- Alle de undersøkte rensefiskartene tålte et 20 minutters opphold i hydrogenperoksidløsning ($c = 1\,500\text{ ppm}$ aktiv substans; $T \sim 12\text{ °C}$), men fiskene ble stresset og viste tegn på aversjon og irritasjon.

På bakgrunn av disse resultatene, frarådes behandling av de undersøkte rensefiskartene med direkte ferskvann. Resultatene viser imidlertid at de undersøkte leppefiskartene kan behandles med gradvis ferskvann og at alle de undersøkte rensefiskartene kan behandles med hydrogenperoksid. Siden ferskvann er vist å ha bedre behandlingseffekt mot AGD enn hydrogenperoksid for laks (Hytterød *et al.* 2017), anbefales behandling med gradvis ferskvann fremfor behandling med hydrogenperoksid, særlig ved vanntemperaturer over $12\text{--}14\text{ °C}$ hvor hydrogenperoksid har liten sikkerhetsmargin mellom terapeutisk og skadelig dose.

Det er behov for mer kunnskap om hvordan faktorer som størrelse, utviklingsstadiet, alder, helse og ernæringsmessig status påvirker rensefiskenes toleranse for ferskvanns- og hydrogenperoksidbehandlinger. Det trengs også kunnskap om hva som er optimal eksponeringstid og saltholdighet/hydrogenperoksidkonsentrasjon i forhold til effekt og fiskevelferd ved behandling mot AGD. Behandling med brakkvann og lang eksponeringstid (Dahle 2015, Karlsbakk 2015, Hytterød *et al.* 2017) er et alternativ som bør undersøkes nærmere. Ettersom gjentatte behandlinger kan være nødvendig ved tilbakefall eller ny smitte, bør det også undersøkes hvordan antall behandlinger og intervallene mellom dem påvirker rensefiskene.

10 Referanser

- Adams, M. B. og Nowak, B. F. 2004. Sequential pathology after initial freshwater bath treatment for amoebic gill disease in cultured Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, **27** (3): 163–173.
- Adams, M. B., Crosbie, P. B. B. og Nowak, B. F. 2012. Preliminary success using hydrogen peroxide to treat Atlantic salmon, *Salmo salar* L., affected with experimentally induced amoebic gill disease (AGD). *Journal of Fish Diseases*, **35** (11): 839–848.
- Akzo Nobel. 2016. *Preparatomtale Nemona 49,5% w/w*. Felleskatalogen AS. Oslo: Legemiddelverket. Tilgjengelig fra: https://www.legemiddelsok.no/_layouts/15/Preparatomtaler/Spc/11-8574.pdf (lest 22.4.2017).
- Beitinger, T. L. 1990. Behavioral reactions for the assessment of stress in fishes. *Journal of Great Lakes Research*, **16** (4): 495–528.
- Bennett, B. A. 1985. A mass mortality of fish associated with low salinity conditions in the Bot River estuary. *Transactions of the Royal Society of South Africa*, **45** (3–4): 437–447.
- Bernier, N. J. og Peter, R. E. 2001. The hypothalamic-pituitary-interrenal axis and the control of food intake in teleost fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, **129** (2–3): 639–644.
- Bernier, N. J. og Craig, P. M. 2005. CRF-related peptides contribute to stress response and regulation of appetite in hypoxic rainbow trout. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **289** (4): R982–R990.
- Bernier, N. J. 2006. The corticotropin-releasing factor system as a mediator of the appetite-suppressing effects of stress in fish. *General and comparative endocrinology*, **146** (1): 45–55.
- Biron, M. og Benfey, T. J. 1994. Cortisol, glucose and hematocrit changes during acute stress, cohort sampling, and the diel cycle in diploid and triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis* Mitchell). *Fish physiology and biochemistry*, **13** (2): 153–160.
- Bone, Q. og Moore, R. H. 2008. *Biology of Fishes*. 3 utg. New York, USA: Taylor & Francis Group. 478 s.
- Bonga, S. E. W. 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews*, **77** (3): 591–625.
- Bowers, J. M., Speare, D. J. og Burka, J. F. 2002. The effects of hydrogen peroxide on the stress response of Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, **25** (4): 311–313.
- Bruno, D. W. og Raynard, R. S. 1994. Studies on the use of hydrogen peroxide as a method for the control of sea lice on Atlantic salmon. *Aquaculture International*, **2** (1): 10–18.
- Bustos, P. A., Young, N. D., Rozas, M. A., Bohle, H. M., Ildefonso, R. S., Morrison, R. N. og Nowak, B. F. 2011. Amoebic gill disease (AGD) in Atlantic salmon (*Salmo salar*) farmed in Chile. *Aquaculture*, **310** (3): 281–288.
- Clark, G., Powell, M. og Nowak, B. 2003. Effects of commercial freshwater bathing on reinfection of Atlantic salmon, *Salmo salar*, with amoebic gill disease. *Aquaculture*, **219** (1): 135–142.
- Cooper, B., Creeth, J. M. og Donald, A. S. 1985. Studies of the limited degradation of mucus

glycoproteins. The mechanism of the peroxide reaction. *Biochemical Journal*, **228** (3): 615–626.

Creeth, J. M., Cooper, B., Donald, A. S. og Clamp, J. R. 1983. Studies of the limited degradation of mucus glycoproteins. The effect of dilute hydrogen peroxide. *Biochemical Journal*, **211** (2): 323–332.

Crespi, E. J. og Denver, R. J. 2004. Ontogeny of corticotropin-releasing factor effects on locomotion and foraging in the Western spadefoot toad (*Spea hammondi*). *Hormones and Behavior*, **46** (4): 399–410.

Crosbie, P. B. B., Bridle, A. R., Cadoret, K. og Nowak, B. F. 2012. In vitro cultured *Neoparamoeba perurans* causes amoebic gill disease in Atlantic salmon and fulfils Koch's postulates. *International journal for parasitology*, **42** (5): 511–515.

Dahle, O. M. V. 2015. *Experimental infections with Paramoeba perurans and AGD development in Atlantic salmon (Salmo salar) and ballan wrasse (Labrus bergylta). Are there host and P. perurans strain-related differences in infectivity and virulence?* Masteroppgave i fiskehelse. Bergen: Universitetet i Bergen, Institutt for biologi.

Eslamloo, K., Akhavan, S. R., Fallah, F. J. og Henry, M. A. 2014. Variations of physiological and innate immunological responses in goldfish (*Carassius auratus*) subjected to recurrent acute stress. *Fish & Shellfish Immunology*, **37** (1): 147–153.

Folmar, L. C. og Dickhoff, W. W. 1980. The parr–smolt transformation (smoltification) and seawater adaptation in salmonids: a review of selected literature. *Aquaculture*, **21** (1): 1–37.

Gaikowski, M. P., Rach, J. J. og Ramsay, R. T. 1999. Acute toxicity of hydrogen peroxide treatments to selected lifestages of cold-, cool-, and warmwater fish. *Aquaculture*, **178** (3): 191–207.

Grant, A. N. 2002. Medicines for sea lice. *Pest management science*, **58** (6): 521–527.

Gupta, B. L. 1989. The relationship of mucoid substances and ion and water transport, with new data on intestinal goblet cells and a model for gastric secretion. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, **43**: 81–110.

Gytte, T. 2004. Hvordan har oppdrettsfisken det? *Havforskningsnytt* nr. 9-2004.

Hattingh, J. 1977. Blood sugar as an indicator of stress in the freshwater fish, *Labeo capensis* (Smith). *Journal of fish biology*, **10** (2): 191–195.

Haugland, G. T., Andersen, L., Olsen, A. B. og Rønneseth, A. (2015, 3.–4. mars). *Hvorfor gjellescore ikke kan benyttes for rognkjeks, Cyclopterus lumpus – resultater og observasjoner fra smitteforsøk med amøben Paramoeba perurans*. Frisk fisk 2015, Tromsø, s. 24: Tekna.

Hjeltnes, B., Walde, C. S., Bang Jensen, B. og Haukaas, A. (red.). 2016. *Fiskehelserapporten 2015*. Veterinærinstituttets rapportserie nr. 3-2016. Oslo: Veterinærinstituttet. 76 s.

Hoar, W. S. 1976. Smolt transformation: evolution, behavior, and physiology. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, **33** (5): 1233–1252.

Hoar, W. S. 1988. The physiology of smolting salmonids. I: Hoar, W. S. og Randall, D. J. (red.) b. **11B Fish physiology**, s. 275–343. London: Academic Press, Inc.

Horsberg, T. E. 2000. Farmakologi av antiparasittære midler brukt mot lakselus. I: Bredal, W. (red.) b. **SLK-publikasjon 2000:02 Terapianbefaling: Behandling mot lakselus i oppdrettsanlegg**,

s. 11–15. Oslo: Statens legemiddelkontroll.

Hytterød, S., Andersen, L., Hansen, H., Blindheim, S. H., Poppe, T. T., Kristoffersen, A. B. og Mo, T. A. 2017. AGD-behandlingsstrategier – Dose-respons-studier med hydrogenperoksid og ferskvann. *Veterinærinstituttets rapportserie nr. 10-2017*. Bergen: Veterinærinstituttet. 30 s.

Ingólfsson, A. og Kristjánsson, B. K. 2002. Diet of juvenile lumpsucker *Cyclopterus lumpus* (Cyclopteridae) in floating seaweed: effects of ontogeny and prey availability. *Copeia*, **2002** (2): 472–476.

Iwama, G. K. 1998. Stress in fish. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **851** (1): 304–310.

Johnson, S. C., Constible, J. M. og Richard, J. 1993. Laboratory investigations on the efficacy of hydrogen peroxide against the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and its toxicological and histopathological effects on Atlantic salmon *Salmo salar* and chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. *Diseases of aquatic organisms*, **17** (3): 197–204.

Karlsbakk, E., Olsen, A. B., Einen, A.-C. B., Mo, T. A., Fiksdal, I. U., Aase, H., Kalgraff, C., Skår, S.-Å. og Hansen, H. 2013. Amoebic gill disease due to *Paramoeba perurans* in ballan wrasse (*Labrus bergylta*). *Aquaculture*, **412–413**: 41–44.

Karlsbakk, E. 2015. Amøbisk gjellesykdom (AGD) – litt om den nye plagen. I: Bakketeig, I. E., Gjørøster, H., Hauge, M., Sunnset, B. H. og Toft, K. Ø. (red.) Fisken og havet, særnummer 1-2015, *Havforskningsrapporten 2015*, s. 33–35. Bergen: Havforskningsinstituttet.

Khan, R. A., Campbell, J. og Lear, H. 1981. Mortality in captive Atlantic cod, *Gadus morhua*, associated with fin rot disease. *Journal of wildlife diseases*, **17** (4): 521–527.

Kiemer, M. C. B. og Black, K. D. 1997. The effects of hydrogen peroxide on the gill tissues of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture*, **153** (3): 181–189

Leclercq, E., Davie, A. og Migaud, H. 2014. The physiological response of farmed ballan wrasse (*Labrus bergylta*) exposed to an acute stressor. *Aquaculture*, **434**: 1–4.

Leef, M. J., Harris, J. O. og Powell, M. D. 2005. Respiratory pathogenesis of amoebic gill disease (AGD) in experimentally infected Atlantic salmon *Salmo salar*. *Diseases of aquatic organisms*, **66** (3): 205–213.

Leef, M. J., Hill, J. V., Harris, J. O. og Powell, M. D. 2007. Increased systemic vascular resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., affected with amoebic gill disease. *Journal of Fish Diseases*, **30** (10): 601–613.

Lythgoe, J. og Lythgoe, G. 1991. *Fishes of the Sea: The North Atlantic and Mediterranean*. London, Storbritannia: Blandford Press. 256 s.

Mahoney, J. B., Midlige, F. H. og Deuel, D. G. 1973. A fin rot disease of marine and euryhaline fishes in the New York Bight. *Transactions of the American Fisheries Society*, **102** (3): 596–605.

Mann, K. og Lazier, J. 2006. *Dynamics of Marine Ecosystems: Biological-Physical Interactions in the Oceans*. 3 utg. Malden, USA: Blackwell Publishing Ltd. 512 s.

McAndrew, K. J., Sommerville, C., Wootten, R. og Bron, J. E. 1998. The effects of hydrogen peroxide treatment on different life - cycle stages of the salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer 1837). *Journal of Fish Diseases*, **21** (3): 221–228.

- McCormick, S. D. og Saunders, R. L. 1987. Preparatory physiological adaptations for marine life of salmonids: osmoregulation, growth, and metabolism. *American Fisheries Society Symposium*, **1** (1987): 211–229.
- McCormick, S. D., Shrimpton, J. M., Carey, J. B., O'dea, M. F., Sloan, K. E., Moriyama, S. og Björnsson, B. T. 1998. Repeated acute stress reduces growth rate of Atlantic salmon parr and alters plasma levels of growth hormone, insulin-like growth factor I and cortisol. *Aquaculture*, **168** (1): 221–235.
- Milligan, C. L. og Wood, C. M. 1982. Disturbances in haematology, fluid volume distribution and circulatory function associated with low environmental pH in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Journal of Experimental Biology*, **99** (1): 397–415.
- Mitchell, A. J. og Collins, C. 1997. Review of the therapeutic uses of hydrogen peroxide in fish production. *Aquaculture Magazine*, **23** (3): 74–79.
- Mitchell, S. O. og Rodger, H. D. 2011. A review of infectious gill disease in marine salmonid fish. *Journal of Fish Diseases*, **34** (6): 411–432.
- Mo, T. A. og Hytterød, S. 2016. Behandling mot AGD. *Norsk fiskeoppdrett*, **4**: 52–53.
- Mommsen, T. P., Vijayan, M. M. og Moon, T. W. 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, **9** (3): 211–268.
- Munday, B. L., Foster, C. K., Roubal, F. R. og Lester, R. J. G. 1990. Paramoebic gill infection and associated pathology of Atlantic salmon, *Salmo salar*, and rainbow trout, *Salmo gairdneri*, in Tasmania. I: Perkins, F. O. og Cheng, T. C. (red.) *Pathology in marine science*, s. 215–222. San Diego, California, USA: Academic Press, Inc.
- Nilsen, A., Viljugrein, H., Røsæg, M. V. og Colquhoun, D. 2014. Rensefiskhelse – kartlegging av dødelighet og dødelighetsårsaker. *Veterinærinstituttets rapportserie nr. 12-2014*. Oslo: Veterinærinstituttet. 84 s.
- Nowak, B. F., Carson, J., Powell, M. D. og Dyková, I. 2002. Amoebic gill disease in the marine environment. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, **22** (2): 144–147.
- Odense, P., Bordeleau, A. og Guilbault, R. 1966. Tolerance levels of cod (*Gadus morhua*) to low salinity. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, **23** (9): 1465–1467.
- Olsen, R. E., Sundell, K., Ringø, E., Myklebust, R., Hemre, G.-I., Hansen, T. og Karlsen, Ø. 2008. The acute stress response in fed and food deprived Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Aquaculture*, **280** (1): 232–241.
- Pankhurst, N. W., King, H. R. og Ludke, S. L. 2008. Relationship between stress, feeding and plasma ghrelin levels in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, **41** (1): 53–64.
- Parsons, H., Nowak, B., Fisk, D. og Powell, M. 2001. Effectiveness of commercial freshwater bathing as a treatment against amoebic gill disease in Atlantic salmon. *Aquaculture*, **195** (3): 205–210.
- Pearson, M. P. og Stevens, E. D. 1991. Size and hematological impact of the splenic erythrocyte reservoir in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish physiology and biochemistry*, **9** (1): 39–50.
- Pethon, P. 1998. *Aschehougs store fiskebok. Norges fisker i farger*. 4. utg. Oslo: H. Aschehoug & Co. 447 s.

- Pickering, A. D. 1981. *Stress and fish*. London, Storbritannia: Academic Press. 367 s.
- Pottinger, T. G., Pickering, A. D. og Hurley, M. A. 1992. Consistency in the stress response of individuals of two strains of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, **103** (3–4): 275–289.
- Pottinger, T. G. og Moran, T. A. 1993. Differences in plasma cortisol and cortisone dynamics during stress in two strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of fish biology*, **43** (1): 121–130.
- Potts G. W. 1974. The colouration and its behavioural significance in the corksing wrasse, *Crenilabrus Melops*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **94**: 925–938.
- Powell, M. D. og Perry, S. F. 1997. Respiratory and acid-base pathophysiology of hydrogen peroxide in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquatic toxicology*, **37** (2–3): 99–112.
- Powell, M. D., Parsons, H. J. og Nowak, B. F. 2001. Physiological effects of freshwater bathing of Atlantic salmon (*Salmo salar*) as a treatment for amoebic gill disease. *Aquaculture*, **199** (3): 259–266.
- Powell, M. D., Forster, M. E. og Nowak, B. F. 2002. Apparent vascular hypertension associated with amoebic gill disease affected Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Tasmania. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, **22** (5): 328–333.
- Powell, M. D. og Clark, G. A. 2003. In vitro survival and the effect of water chemistry and oxidative chemical treatments on isolated gill amoebae from AGD-affected Atlantic salmon. *Aquaculture*, **220** (1): 135–144.
- Powell, M. D. og Clark, G. A. 2004. Efficacy and toxicity of oxidative disinfectants for the removal of gill amoebae from the gills of amoebic gill disease affected Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in freshwater. *Aquaculture Research*, **35** (2): 112–123.
- Powell, M. D., Attard, M., Harris, J. O., Roberts, S. D. og Leef, M. J. 2005. Atlantic Salmon Aquaculture Subprogram: Why fish die – treatment and pathophysiology of amoebic gill disease. *Fisheries Research and Development Corporation Final Report Project*. 115 s.
- Powell, M. D., Reynolds, P. og Kristensen, T. 2015. Freshwater treatment of amoebic gill disease and sealice in seawater salmon production: Considerations of water chemistry and fish welfare in Norway. *Aquaculture*, **448**: 18–28.
- Quignard, J.-P. og Pras, A. 1986. Labridae. I: Whitehead, P. J. P., Bauchot, M.-L., Hureau, J.-C., Nielsen, J. og Tortorese, E. (red.) b. **II Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean**, s. 919–942. Paris: UNESCO, Richard Clay, Bungay.
- Rach, J. J., Schreier, T. M., Howe, G. E. og Redman, S. D. 1997. Effect of species, life stage, and water temperature on the toxicity of hydrogen peroxide to fish. *The Progressive fish-culturist*, **59** (1): 41–46.
- Roberts, S. D. og Powell, M. D. 2003. Reduced total hardness of fresh water enhances the efficacy of bathing as a treatment for amoebic gill disease in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, **26** (10): 591–599.
- Roberts, S. D. og Powell, M. D. 2008. Freshwater bathing alters the mucous layer of marine Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Journal of fish biology*, **72** (7): 1864–1870.
- Rozas, M., Bohle, H., Grothusen, H. og Bustos, P. 2012. Epidemiology of amoebic gill disease (AGD) in Chilean salmon industry between 2007 and 2010. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, **32** (5): 181–188.

- Ruane, N. M., Nolan, D. T., Rotllant, J., Costelloe, J. og Bonga, S. E. W. 2000. Experimental exposure of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) to the infective stages of the sea louse *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer) influences the physiological response to an acute stressor. *Fish & Shellfish Immunology*, **10** (5): 451–463.
- Samuelsson, M. 1996. Interannual salinity variations in the Baltic Sea during the period 1954–1990. *Continental Shelf Research*, **16** (11): 1463–1477.
- Sayer, M. D. J., Reader, J. P. og Davenport, J. 1996. Survival, osmoregulation and oxygen consumption of wrasse at low salinity and/or low temperature. I: Sayer, M. D. J., Treasurer, J. W. og Costello, M. J. (red.) *Wrasse: Biology and Use in Aquaculture*, s. 119–135. Oxford, Storbritannia: Fishing News Books, Blackwell Science Ltd.
- Scherer, E. 1992. Behavioural responses as indicators of environmental alterations: approaches, results, developments. *Journal of applied ichthyology*, **8** (1–4): 122–131.
- Schreck, C. B., Olla, B. L. og Davis, M. W. 1997. Behavioral responses to stress. I: Iwama, G., Pickering, A., Sumpter, J. og Schreck, C. B. (red.) *Society for Experimental Biology, Seminar Series 62, Fish stress and health in aquaculture*, s. 145–170. Cambridge, Storbritannia: Cambridge University Press.
- Silbergeld, E. K. 1974. Blood glucose: a sensitive indicator of environmental stress in fish. *Bulletin of Environmental Contamination and toxicology*, **11**: 20–25.
- Skiftesvik, A. B., Blom, G., Agnalt, A. L., Durif, C. M. F., Browman, H. I., Bjelland, R. M., Harkestad, L. S., et al. 2014. Wrasse (Labridae) as cleaner fish in salmonid aquaculture—the Hardangerfjord as a case study. *Marine Biology Research*, **10**: 289–300.
- Skog K, Mikkelsen KO, Bjordal Å. 1994 Leppefisk – tilgjengelighet og fangstmuligheter i perioden februar – juni. *Fisken og Havet* 4: 1-34.
- Soivio, A. og Oikari, A. 1976. Haematological effects of stress on a teleost, *Esox lucius* L. *Journal of fish biology*, **8** (5): 397–411.
- Speare, D. J., Carvajal, V. og Horney, B. S. 1999. Growth suppression and branchitis in trout exposed to hydrogen peroxide. *Journal of comparative pathology*, **120** (4): 391–402.
- Steinum, T., Kvellestad, A., Rønneberg, L. B., Nilsen, H., Asheim, A., Fjell, K., Nygård, S. M. R., Olsen, A. B. og Dale, O. B. 2008. First cases of amoebic gill disease (AGD) in Norwegian seawater farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and phylogeny of the causative amoeba using 18S cDNA sequences. *Journal of Fish Diseases*, **31** (3): 205–214.
- Suski, C. D., Cooke, S. J., Danylchuk, A. J., O'Connor, C. M., Gravel, M.-A., Redpath, T., Hanson, K. C., Gingerich, A. J., Murchie, K. J. og Danylchuk, S. E. 2007. Physiological disturbance and recovery dynamics of bonefish (*Albula vulpes*), a tropical marine fish, in response to variable exercise and exposure to air. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **148** (3): 664–673.
- Thomassen, J. M. 1993. Hydrogen peroxide as a delousing agent for Atlantic salmon. I: Boxshall, G. A. og Defaye, D. (red.) *Aquaculture and Fisheries Support, Pathogens of wild and farmed fish: sea lice*, s. 290–295. Chichester, West Sussex, England: Ellis Horwood Ltd.
- Tort, L., Montero, D., Robaina, L., Fernández - Palacios, H. og Izquierdo, M. S. 2001. Consistency of stress response to repeated handling in the gilthead sea bream *Sparus aurata* Linnaeus, 1758.

Aquaculture Research, **32** (7): 593–598.

Treasurer, J. W. og Grant, A. 1997. The efficacy of hydrogen peroxide for the treatment of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L. infested with sea lice (Copepoda: Caligidae). *Aquaculture*, **148** (4): 265–275.

VKM. 2014. Risk Assessment of Amoebic Gill Disease. Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety. Oslo: Vitenskapskomiteen for mattrygghet. 39 s.

Wedemeyer, G. A. og Yasutake, W. T. 1977. Clinical methods for the assessment of the effects of environmental stress on fish health. *Technical Paper 89*. Washington, D.C., USA: United States Fish and Wildlife Service. 18 s.

Wedemeyer, G. A., Saunders, R. L. og Clarke, W. C. 1980. Environmental factors affecting smoltification and early marine survival of anadromous salmonids. *Marine Fisheries Review*, **42** (6): 1–14.

Wedemeyer, G. A., Barton, B. A. og McLeay, D. J. 1990. Stress and acclimation. I: Schreck, C. B. og Moyle, P. B. (red.) *Methods for Fish Biology*, s. 451–489. Bethesda, Maryland, USA: American Fisheries Society.

Wells, R. M. G., Tetens, V. og Devries, A. L. 1984. Recovery from stress following capture and anaesthesia of Antarctic fish: haematology and blood chemistry. *Journal of fish biology*, **25** (5): 567–576.

Wendt, C. A. G. og Saunders, R. L. 1973. Changes in carbohydrate metabolism in young Atlantic salmon in response to various forms of stress. *International Atlantic Salmon Foundation, Special Publication Series*, **4**: 55–82.

Whitfield, D. P. og Blaber, A. K. 1981. Salinity ranges of some southern African fish species occurring in estuaries. *African Zoology*, **16** (3): 151–155.

Woodward, C. C. og Strange, R. J. 1987. Physiological stress responses in wild and hatchery-reared rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society*, **116** (4): 574–579.

Wu, R. S. S. og Woo, N. Y. S. 1983. Tolerance of hypo-osmotic salinities in thirteen species of adult marine fish: implications for estuarine fish culture. *Aquaculture*, **32** (1–2): 175–181.

Young, N. D., Crosbie, P. B. B., Adams, M. B., Nowak, B. F. og Morrison, R. N. 2007. *Neoparamoeba perurans* n. sp., an agent of amoebic gill disease of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *International journal for parasitology*, **37** (13): 1469–1481.

Young, N. D., Dyková, I., Snekvik, K., Nowak, B. F. og Morrison, R. N. 2008. *Neoparamoeba perurans* is a cosmopolitan aetiological agent of amoebic gill disease. *Diseases of aquatic organisms*, **78** (3): 217–223.

Zilberg, D. og Munday, B. L. 2000. Pathology of experimental amoebic gill disease in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and the effect of pre-maintenance of fish in sea water on the infection. *Journal of Fish Diseases*, **23** (6): 401–407.

Zuchelkowski, E. M., Pinkstaff, C. A. og Hinton, D. E. 1985. Mucosubstance histochemistry in control and acid - stressed epidermis of brown bullhead catfish, *Ictalurus nebulosus* (LeSueur). *The Anatomical Record*, **212** (4): 327–335.

Zuur, AF, Ieno, EN, Walker, N, Saveliev, AA, Smith, GM. 2009. Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R. Springer-Verlag New York.

11 Appendix

A1: Adferdsobservasjoner ved bruk av kamera i merd. Tre kameraer ble plassert på ulike dyp. BG: berggylt; RK: Rognkjeks; GG: Grønnngylt; BN: Bergnebb

	Dato	Dagnr.	Tidspunkt	Merd	Kamera	Tid (timer)	Total filmtid
BG/RK	15.sep	13	1300-1600	16D	3	2	6
BN/GG-1	22.sep	20	0900-1300	3A	3	3	9
RK/BN	23.sep	21	1030-1400	1D	3	3,5	10,5
BG/BN	24.sep	22	1000-1330	16B	3	3,5	10,5
BN/GG -2	25.sep	23	1300-1500	5B	3	2	6
BG/GG	26.sep	24	1300-1430	13D	3	1,5	4,5
RK/GG	29.sep	27	1000-1300	13A	3	3	9
BG/RK	30.sep	28	1030-1330	4D	3	3	9
Totalt timer film							64,5

A2: Adferdsobservasjoner ved bruk av antenner i merd. 4 antenner ble plassert på ulike dyp.

	Merd	Tid fra	Tid til	Dagnr.	Timer	Registreringer	Fisk
BN/GG	6A	11 sept kl 1100	12 sept kl 12	9-10	25	2356	5 BN + 9 GG
GG	6B	12 sept kl 1300	16 sept kl 915	10-14	92	24771	23 GG
RK/GG	5C	16 sept kl 930	19 sept kl 930	14-17	72	8167	11 GG + 12 RK
BN	6D	19 sept kl 1300	22 sept kl 930	17-20	68	3116	12 BN
BG	6C	22 sept kl 1000	23 sept kl 0700	20-21	21	1837	17 BG
BG-2	6C	25 sept kl 1330	26 sept kl 1300	23-24	24	3600	21 BG
BN/GG	5B	26 sep kl 1340	29 sept kl 930	24-27	68	3456	2 BN + 8 GG
BN	5A	29 sept kl 1000	30 sept kl 1030	27-28	24	803	18 BN
RK/GG-2	5C	30 sept kl 1100	1 okt kl 1225	28-29	25	762	8 GG + 8 RK
Totalt					419	48868	122



A3. Histogram som viser fordeling av antall lus og gjennomsnitt som rød vertikal linje i de ulike behandlingene for stadiene preadulte og voksne hunnlus

Retur: Havforskningsinstituttet, Postboks 1870 Nordnes, NO-5817 Bergen

HAVFORSKNINGSINSTITUTTET
Institute of Marine Research

Nordnesgaten 50 – Postboks 1870 Nordnes
NO-5817 Bergen
Tlf.: +47 55 23 85 00
E-post: post@hi.no

www.hi.no

