

Rolf Erik Olsen, Ane Vigdisdatter Nytrø, Maria Guttu

Styrking av laks sin helse i bekjemping av lakselus

STUDIE AV EFFEKT AV FÔRKOMPONENT LX1
PÅ POSTSMOLT I KAR

Trondheim 01.11.18



Rapport

Styrking av laks sin helse i bekjemping av lakselus

STUDIE AV EFFEKT AV FÔRKOMPONENT LX1 PÅ POSTSMOLT I KAR

VERSJON

1

DATO

01.11.18

FORFATTERE

Rolf Erik Olsen
Ane Vigdisdatter Nytrø
Maria Guttu

PROSJEKTNUMMER

FHF - 901413

ANTALL SIDER

15

OPPDRAGSGIVERE

Biofeed

ANTALL VEDLEGG

1

Fiskeri- og havbruksnæringens
forskningsfond

SAMMENDRAG

Smitte av lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) er en begrensning for vekst i akvakulturindustrien i Norge. Tidligere har kontroll av lakselus primært basert seg på kjemisk avlusingsmetoder. Bruken av mekaniske avlusningsmetoder og andre ikke-medikamentelle avlusningsmetoder som rensefisk har økt de siste årene, men dette er kostbart og fiskevelferden er omdiskutert. Det er derfor av stor interesse å finne frem til enklere behandlingsmetoder med effektive ingredienser som kan inkluderes i dietten. Et fôrforsøk ble gjennomført ved NTNU, Sealab for å undersøke om Biofeed Salmo Forte komponent LX1 i kommersielle dietter kan redusere påslag av kopepoditter og vekst av lakselus på laks. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller i tilvekst hos laks mellom de to diettene. Det ble heller ikke funnet signifikante forskjeller mellom antall lus eller utviklingsstadier av lus for de to undersøkte fôrtypene.

Innholdsfortegnelse

Introduksjon	4
Bakgrunn	4
Materiale og metode	5
<i>Kar og fisk</i>	5
<i>Fôr</i>	5
<i>Lakselus og smitte</i>	6
<i>Infeksjon med kopepoditter</i>	6
<i>Avslutning av forsøk – telling av lus</i>	6
Resultater	7
<i>Vekst</i>	7
<i>Lusetall</i>	8
Totalt antall lus per kar	8
Fordeling av kjønn- og stadier av lus mellom kar	8
Diskusjon	11
<i>Lusetall</i>	11
<i>Tilvekst</i>	12
Oppsummering:	12
Referanser	13
Vedlegg 1	14

Introduksjon

Foreliggende prosjekt har vært et samarbeid mellom Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU) og Biofeed i Trondheim. Hensikten med denne arbeidspakken har vært å undersøke om Biofeed Salmo Forte komponent LX1 i kommersielle dietter kan redusere påslag av kopepoditter og tilvekst av lakselus på laks i en karstudie. Forsøk ble gjennomført i henhold til godkjent søknad hos mattilsynet (FOTS ID 15366).

Styringsgruppen for prosjektet var Rolf Erik Olsen (NTNU), Øyvind Mejdell Jacobsen (NTNU, CIRiS), Robert Aakvik (Emilsen Fisk AS), Steinar Iversen (SAIV AS) og Tor Henning Iversen (Bio-Consult). Referansegruppen bestod av Merete Bjørgan Schrøder (Norway Royal Salmon AS) og Torkjel Bruheim (Aqua Gen AS).

Bakgrunn

Tidligere har norsk oppdrettsnæring vært avhengig av kjemiske avlusingsmetoder i form av badebehandlinger eller administrert i form av fôr. Lusa har imidlertid kort generasjonstid, og hyppige behandlinger har resultert i at lakselusa har utviklet økt toleranse eller resistens mot de fleste kjemiske behandlinger i form av organofosfater (Fallang et al., 2004; Kaur et al., 2015) og hydrogenperoksid (Helgesen et al., 2017; Aaen et al., 2015).

Som konsekvens har man måttet finne alternative ikke-medikamentelle metoder i form av behandlinger med ferskvann, temperert vann, rensefisk eller mekaniske behandlinger for å holde lusenivåene nede. Hyppige mekaniske behandlinger kan gi betydelige utfordringer knyttet til fiskevelferd og dødelighet (Gismervik et al., 2017) og avlusninger er en betydelig kostnadsdriver i oppdrett (Liu & Bjelland, 2014; Iversen et al., 2017). Bruken av rensefisk har også økt, men det er et betydelig velferdsproblem som må adresseres, og tilgjengeligheten på fisk er begrenset (Brooker et al., 2018; Gonzalez & de Boer, 2017).

Det er derfor av stor interesse å finne frem til enklere behandlingsmetoder med effektive ingredienser som kan inkluderes i dietten for å redusere påslag av lakselus. Det overordnede målet for dette prosjektet derfor å fokusere på fiskens helse sett i sammenheng med dyrevelferd gjennom styrking av fiskens immunforsvar ved tilførsel av naturlige mineral-forbindelser levert av Biofeed som tilsettes kommersielt laksefôr. På denne måten unngår man potensielt unødige kjemiske avlusninger, og bidrar til å redusere behovet for bruk av ikkemedikamentelle verktøy i kampen mot lakselusa.

NTNU ble i 2017 kontaktet av Tor Henning Iversen og Biofeed med en forespørsel om å gjennomføre en studie av en fôrkomponents effekt på lusepåslag ved NTNU. Fôrkomponenten som skulle testes var Biofeed Salmo Forte komponent LX1. Dette er en av flere strategier som det arbeides med ved Biofeed for å utvikle lusebehandling til bruk direkte i fôr. Det ble inngått avtale om gjennomføring av forsøk som beskrevet.

Materiale og metode

Kar og fisk

Forsøket ble gjennomført ved NTNU Sealabs lokaler i Trondheim i perioden August–Oktober 2018. Smolt (Salmobreed) ble hentet fra Salmars settefiskanlegg på Kjørsvikbugen 24 Mai 2018 (108 g, SD $\pm$ 23.4) og fordelt i fire kar. Etter 14 dager ble fisken gradvis overført til sjøvann. Den 13 juni ble fisken veid (129 g, SD $\pm$ 29, n = 80) og fordelt mellom 8 forsøkskar 400 liter, 100 x 100 x 50 cm) for videre påvekst og akklimatisering. I hvert kar ble det plassert 10 tilfeldig valgte fisk. I tillegg ble det opprettet to bufferkar per behandling for å ha mulighet for å bytte ut enkeltfisk som viste dårlig tilpasningsevne til karene frem til forsøksstart 7 August. Hver behandling bestod av fire kar, totalt åtte kar for forsøket. Valg av behandling for hvert kar var tilfeldig, slik at fordelingen av kar på de to fôrregimene ble jevnt fordelt i forsøkshallen.

I forbindelse med veiing og sortering til kar ble fisk først lett bedøvet i karet ved bruk av $\frac{1}{4}$ av standarddose Benzoak Vet. (5 ml / 100 liter, ACD Pharmaceuticals), før videre sedasjon av enkeltfisk iht pakningsvedlegg (20 ml / 100 liter) med samme bedøvelsesmiddel. Fisk ble deretter vekt- og lengdemålt og overført til et tomt kar.

Fisk ble videre holdt i respektive tanker på døgnrytme 12:12. og tilbudt en kommersiell fôrdiett (Polarfeed FW Phase, 2 mm) frem til forsøksstart 7 august.

Oksygen og temperatur ble målt daglig gjennom forsøksperioden. Alle kar var forsynt med 10 l / min sjøvann med naturlig varierende temperatur gjennom forsøksperioden. Innløpsvannet til forskningsstasjonen hentes fra 70 meters dyp. Temperatur varierte mellom 9.3°C og 12.6°C med gjennomsnittstemperatur 10.5 °C (S.D. $\pm$ 1.1, Figur 1, Vedlegg 1) i løpet av forsøket. Adferd og appetitt ble vurdert daglig og alle kar hadde lokk for å unngå å stresse fisken unødig.

Ved forsøksstart 7 august var snittvekt for fisken 220 g (S.D. $\pm$ 9,1, Tabell 2, Vedlegg 1). Smitte ble gjennomført 2 september og forsøket ble avsluttet 30 dager senere.

Fôr

Fisken ble fôret 12 t pr dag ved hjelp av Arvotec trommelfôrere (T Drum 2000, Arvo-tec, Finland). Appetitt ble kontrollert visuelt daglig ved å følge responsen på håndfôring. Utfôringen ble justert i henhold til fiskestørrelse og tabell, i tillegg justert for respons på håndfôring. I tillegg gav oppsamling av feces på oppsamlingsrist en god indikasjon på fôrinntaket. Fisk ble tilbudt de to forskjellige fôrdiettene to uker før smitte, fra 19 august, og til forsøksavslutning 1 oktober.

Størrelse på fôret ble justert iht tilvekst og størrelse på fisken, fra 2 til 4 mm pelletstørrelse gjennom forsøksperioden.

Fisk ble sultet 24 timer før vekt- og lengdemåling.

Lakselus og smitte

Kopepoditter av lakselus ble dyrket fra eggstrenger av linje LS Gulen ved Sealab NTNU. Temperatur og lysforhold i luseklekkeriet var de samme som for laksen som inngikk i forsøket. Tilstedeværelse av kopepodittstadie ble bekreftet ved hjelp av mikroskop som beskrevet nedenfor. Eggstrenger i de ulike påvekstkarene for lakselus ble høstet over tre perioder med 4 dagers mellomrom for å ta høyde for forskjeller i modningstadie av eggstrengene.

Beregning av kopepodittdensitet i forsøket ble gjennomført ihht. Hamre et al. (2009) og avgjort ved å benytte en avklipt pipette som ble satt ned i vannprøven, for så å overføres til en målesylinder (50 ml). Vannprøven var under kontinuerlig omrøring og uttak via pipette ble gjort forskjellige steder i vannsøylen for en best mulig variasjon mellom uttak. Volum av vannprøven ble deretter bestemt før avsiling av kopepoditter over i tellekammer. Kun levende kopepoditter ble telt, og metoden ble gjentatt til 200 kopepoditter var oppmålt. Vannvolum per 200 kopepoditter ble dermed avgjort for å estimere kopepoditt-tetthet. Metoden ble gjennomført tre ganger før smitte på karnivå.

Smitte ble gjennomført ved tilførsel av 44 kopepoditter / fisk per kar, med utgangspunkt i at 1/3 av tilførte kopepoditter når preadulte eller adulte stadier på fisken (Hamre et al., 2009).

Infeksjon med kopepoditter

Infeksjon ble gjennomført parallelt i alle kar. Først ble vannivå senket til 2-3 ganger fiskens høyde og innløpsvannet stoppet. Kopepoditter ble deretter jevnt fordelt gjennom hele karet. De neste 60 minuttene ble vannmassene i karet omrørt hvert 2-3 minutt for å oppnå jevnest mulig spredning av kopepoditter og fisk. For å unngå hypoksi ble vannet satt på igjen med redusert flow (3 liter / minutt) etter de første 10 minutter med eksponering. Fra 60 minutter ble flow satt til 10 l/min. Fiskeadferd og karmiljø ble tett monitorert i denne perioden. Nødoksygen var tilgjengelig og ble benyttet dersom oksygenmetningen nærmet seg 70% i karet.

Avslutning av forsøk – telling av lus

Ved forsøkssavslutning ble antall og kjønn av pre-adulte og kjønnsmodne lus estimert. For å redusere stress og sekundære konsekvenser av håndtering som tap av lus og negative påvirkninger på skinnhelse, ble fisk lett bedøvd (5 ml / 100 liter, 25% av standarddose, direkte i karet) i fem minutter før videre håndtering. Fisken ble deretter håvet individuelt over i bedøvelseskar med 60 mg/l benzocain (Benzoak Vet., ACD Pharmaceuticals) og 5 mg/l methomidat (Aquacalm Vet, Scanvacc). Fisk ble deretter lengdemålt og veid, før lus ble plukket av og kjønn og stadie bestemt. Etter hver telling ble bedøvelseskaret undersøkt for lus som hadde falt av. For fem fisk per kar ble lus lagt på fortynnet etanol (70% etanol med 9.2 g/l salt) for eventuelle senere undersøkelser.

Fisk ble deretter avlivet ved overdose Benzoak vet. ihht. pakningsvedlegg.

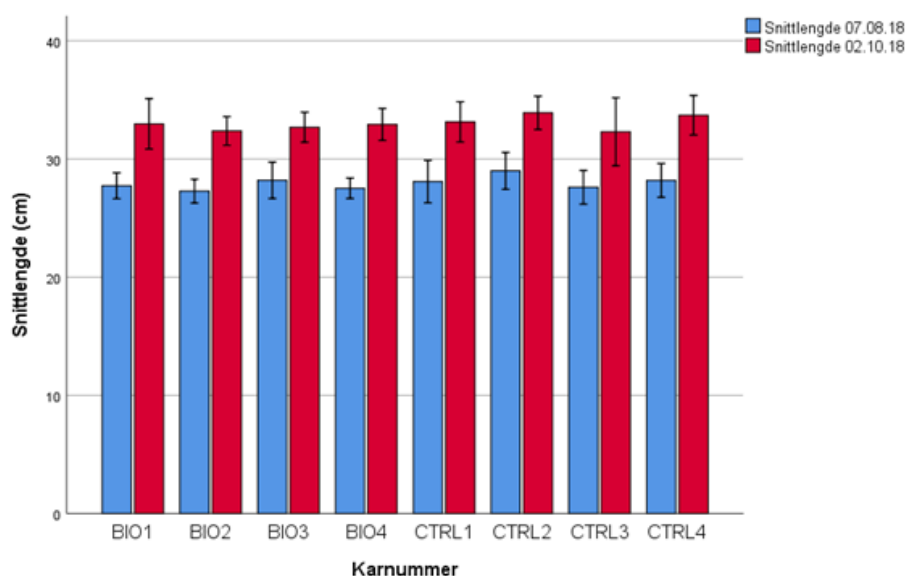
Resultater

Temperaturen varierte mellom 9.3°C og 12.6°C med gjennomsnittstemperatur 10.5 °C (S.D. $\pm$ 1.1, Figur 1, Vedlegg 1). Oksygenmetning i alle kar lå rundt 93% i forsøksperioden (S.D. $\pm$ 5.6, Figur 2, Vedlegg 2).

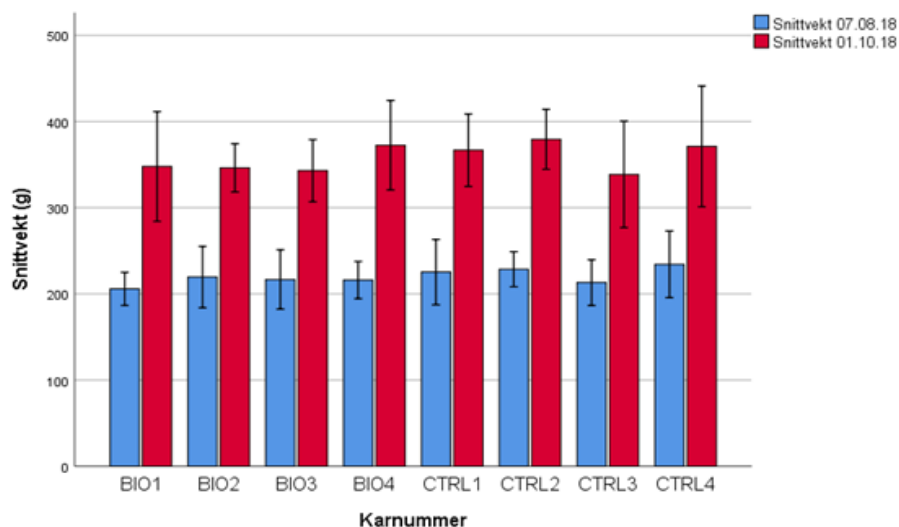
Ingen dødelighet ble registrert i løpet av forsøksperioden.

Vekst

Det ble ikke observert forskjeller i lengde (ANOVA, $P = 0.175$ og $P = 0.222$, Figur 1, Tabell 2, Vedlegg 1) eller vekt (ANOVA, $P = 0.091$ og $P = 0.339$, Figur 2, Tabell 2, Vedlegg 1) mellom karene på de to forskjellige diettene gjennom forsøksperioden. Tilvekst (SGR) ble estimert på karbasis og lå mellom 0,8 og 1 % for alle kar (Tabell 1). Det ble ikke funnet signifikante forskjeller i tilvekst mellom kar på de to diettene.



Figur 1 Snittlengder per kar ved forsøksstart- og slutt målt i cm ($\pm$ S.D.)



Figur 2 Snittvekter per kar ved forsøksstart- og slutt målt i g ($\pm$ S.D.)

Tabell 1 Daglig tilvekst (SGR) for Biofeed og kontrollgruppen for forsøksperioden (aug. - okt. 2018)

Gruppe	Startvekt (g)	Sluttvekt (g)	Antall dager	SGR (%)
Biofeed	2057	3478	53	0,99
Biofeed	2195	3526	53	0,89
Biofeed	2167	3474	53	0,89
Biofeed	2160	3725	53	1,03
Kontroll	2253	3696	53	0,93
Kontroll	2286	3794	53	0,96
Kontroll	2131	3286	53	0,82
Kontroll	2342	3758	53	0,89

Lusetall

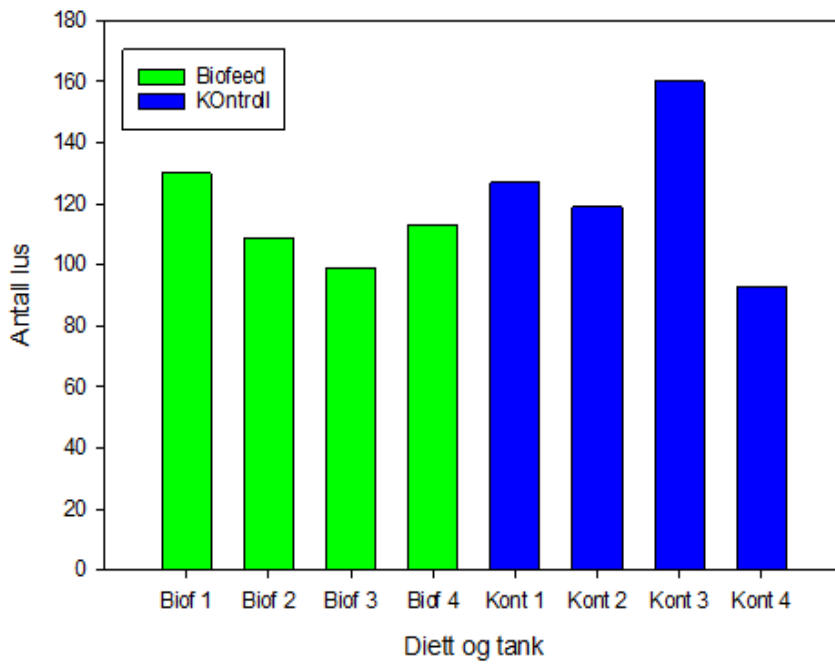
Totalt antall lus per kar

Ved forsøksavslutning lå det totale antall lus på omkring 100 til 130 per kar (Figur 3). To kar hadde et lavere antall lus (Biofeed 3 og kontroll 4) på henholdsvis 99 og 93. dyr. Et kar (kontroll 3) hadde et høyere antall lus, totalt 160 dyr. Det siste skyldes en enkeltfisk med spesielt høyt antall lus (43 lus, fisk nr 8, Tabell 3). For de resterende fiskene i kar 3 viser variasjonen i lusetall det samme bildet som de andre karene. Gjennomsnittlig antall lus per fisk varierte mellom 9 og 13 lus per fisk og varierte mellom fisk i samme kar, men lå i hovedsak rundt det parametriske snittet, med unntak av kontrollkar 3 (Figur 5, Tabell 3, Vedlegg 1).

Fordeling av kjønn- og stadier av lus mellom kar

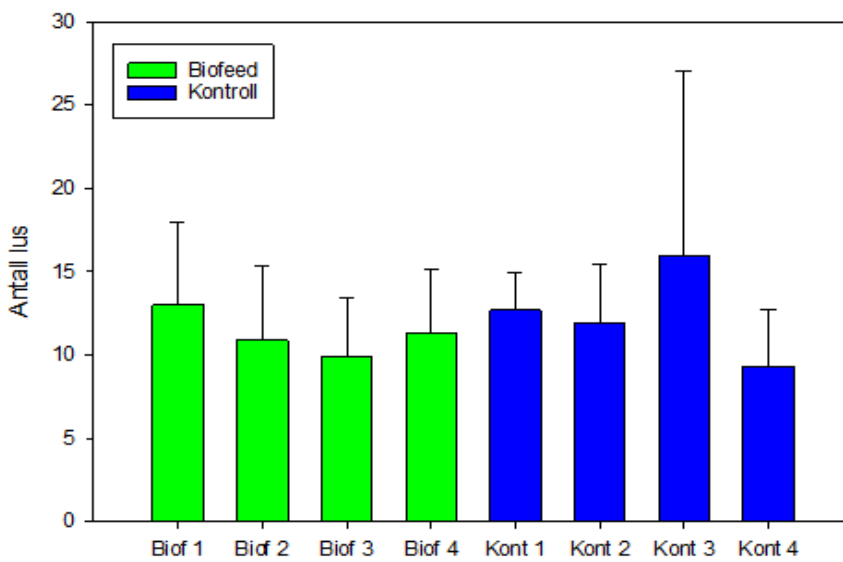
Preadulte hunner utgjorde ca 30% av alle lus i Biofeedgruppen, mens kontroll 2, 3 og 4 viste en tendens til en høyere andel preadulte hunner (mellom 40 og 50%, figur 6). Preadulte hanner var fraværende i Biofeedkarene, og det ble kun funnet en i kontroll 2 karet. Voksne hannlus utgjorde den største gruppen totalt med ca 50 % av alle talte lus, mens voksne hunner utgjorde mellom 10 til 20 % av det totale antallet lus per fisk. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller i fordeling mellom stadier og kjønn av lus mellom de to behandlingene (GLM analyse, Tamahanes Y2 post hoc test og Kolmogorof Smirnof ikke-parametrisk test).

Antall lus pr kar

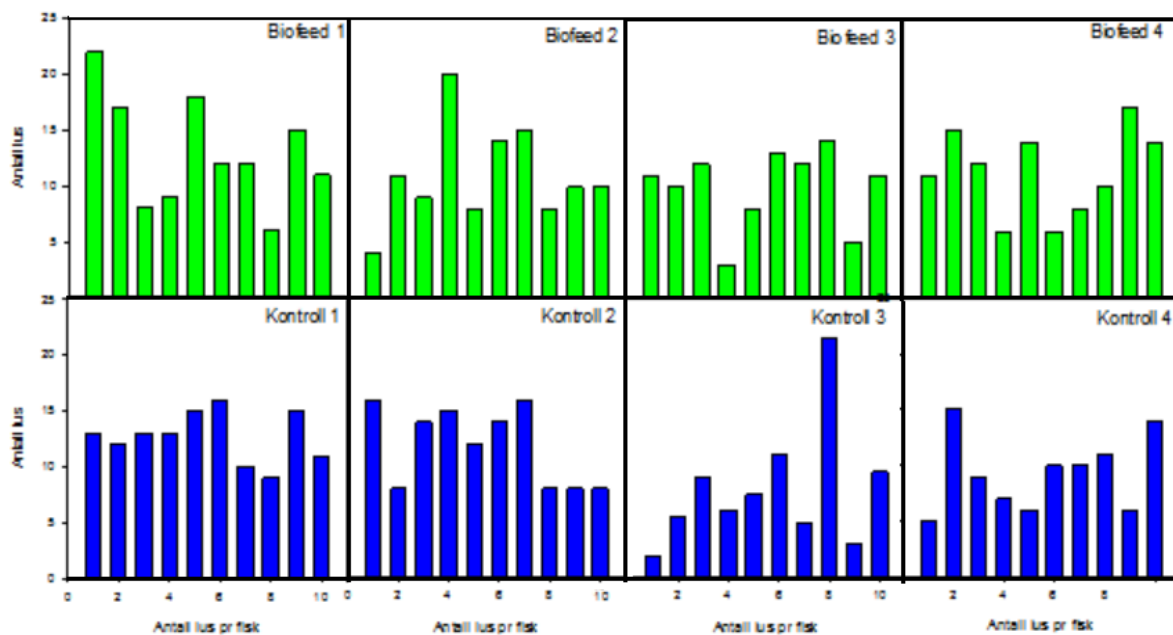


Figur 3 Totalt antall lus per kar ved avslutning av forsøket

Gjennomsnitt lus pr fisk

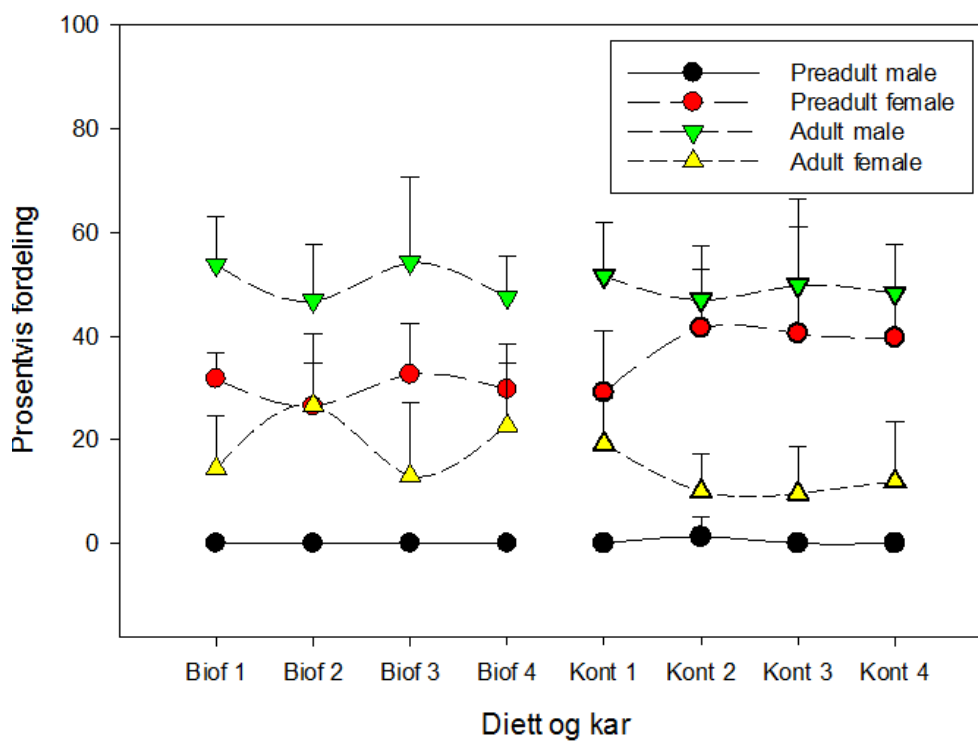


Figur 4 Gjennomsnittlig antall lakselus per fisk



Figur 5 Totalt antall lus per fisk

Prosentvis fordeling på kjønn og stadiet pr kar



Figur 6 Prosentvis fordeling av utviklingsstadier mellom Biofeed og kontroll-kar i forsøket

Diskusjon

Lusetall

En fisk i kontrollgruppe 3 hadde et avvikende antall lus fra resten av fisken i forsøket (Figur 5 og Tabell 3, vedlegg 1). I forbindelse med smitte ble det observert at enkelte fisk var mindre aktive i karet enn andre, noe som kan ha ført til høyere smittepress for enkelte individer. Jevn fordeling i karet, og dermed jevn fordeling av kopepoditt-smitte kan også ha vært påvirket av at fisken sto i en stim, på tross av lavt vannivå for å motvirke nettopp dette. Selv om man ser bort fra de avvikende lusetallene for denne gruppen, vil dette heller ikke gi en signifikant forskjell mellom de to fôrdiettene.

For å unngå negative påvirkninger av stress på appetitt og unødvendig tap av lus, ble fisken bare håndtert i forbindelse med innveing før akklimatisering og ved forsøksslutt.

Telling av kopepoditter ble gjort tre ganger før smitte og vurderes til å være tilstrekkelig for å estimere kopepodittetthet. Den faktiske lusetettheten per fisk ble i dette forsøket målt til å være noe lavere enn det opprinnelige målet på 14 preadulte/adulte pr fisk (med 44 kopepoditter per fisk). En mulig medvirkende årsak til dette kan ha vært at tettheten av fisk ble økt fra 6 til 10 i planleggingsfasen etter diskusjoner rundt behov for antall forsøksdyr med tanke på sikring av statistisk egnethet av datamaterialet (Hamre et al., 2009). Eksempelvis observerte Hamre et al., 2009 et stort men variabelt tap av preadulte og adulte lus mellom kar når antallet fisk økte. De anbefalte derfor at det optimale antall fisk i størrelsesorden >250g var 4-5 fisk når karstørrelsen var 160- 200 liter. De observerte også store variasjoner i tap av lus avhengig av type kar og kargjennomstrøming.

Karene som ble benyttet i dette forsøket var firkantede kar på 400 liter, og er beregnet til fisk på opp til 400g. Slikt sett skulle karene være godt egnet til denne typen forsøk. Selv om fisken hadde hele karet til rådighet, var det en sterk tendens til at fisken posisjonerte seg tett rundt vanninntaket og ikke benyttet hele karet slik at den reelle tettheten rundt fisken nok var høyere. Det er vanskelig å gi en årsak til dette, men fisken søker gjerne skygge eller lavere lysintensitet. Karene her var utstyrt med LED lys som dekket 2/3 av karets overflate.

I tidligere forsøk har fôrkomponent LX1 blitt benyttet i merdforsøk med ørret, hvor fôret ble benyttet som avlusing i forbindelse med høye lusetall, men også profylaktisk i forbindelse med sykdomsforebygging (Bogevik et al., 2016). I forsøket ved Sealab ble fisken tilbudt forsøksfôret i to uker før smitte og gjennom hele forsøksperioden. Det ble imidlertid ikke observert forskjeller i antall lus eller utviklingsstadier av lus på fisk i de to diett-gruppene. Ved forsøksslutt hadde hovedandelen lus utviklet seg til adulte stadier, men ingen eggstrenger ble observert. Sannsynligvis har hunnlusa nettopp gjennomgått skallskifte, noe som er forenelig med annen publisert informasjon om utvikling i temperaturområdet 10-12 °C (Samsing et al., 2016; Johnson & Albright, 1991).

Det var ikke forsøkets intensjon å se på mulige effekter på eggstrenger eller eggkvalitet. Det er derfor ikke mulig å kommentere på dette.

Tilvekst

Adferd hos fisk ble vurdert daglig, og de første dagene i overgangen til nytt fôr ble fisk tilleggsfôret for hånd hver dag for å vurdere appetitt og utfôringsrate, samt at mengde feces i oppsamlingsrist ble vurdert hver dag. Tilvekstraten og K-faktor for forsøksfisken er noe lavere enn forventet vekstrate for fisk av samme størrelse i sjø (Austreng et al., 1987), men ligger nært opp mot karfôrsøk av samme varighet gjennomført i samme kar ved Sealab (Bugten, 2018). Lakselus kan påføre laksefisk betydelige stresspåvirkninger og kan i store tettheter føre til alvorlig hudskade. Omfanget øker med utviklingsstadiet av lakselusen (Bjørn & Finstad, 1998; Grimnes & Jakobsen, 1996). En kan derfor ikke se bort fra at lusebelastningen kan ha påvirket fiskens appetitt i forsøksperioden, da lusene ved forsøksslutt var preadulte eller i tidlig kjønnsmodent stadiet.

Det ble ikke funnet noen signifikante forskjeller i tilvekst eller K-faktor mellom de to fôrbehandlingene (Tabell 1, Vedlegg 1).

Oppsummering:

Det er gjennomført ett påslagsstudie ved NTNU på laks fôr med to dietter. En gruppe ble fôr med et kommersielt tilgjengelig fôr (kontroll) og en gruppe fikk tildelt det samme kommersielle fôret tilsatt komponent LX1. Fisken ble smittet med 44 kopepoditter pr fisk. Ved forsøksslutt var lusene i overgangsfasen preadult – adult. Snittverdiene for antall lus per fisk varierte mellom 9 og 13 lus pr fisk per kar, med unntak av en enkeltfisk med høyere påslag som førte til høyere snittverdi for ett kar. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller i antall eller utviklingsstadier av lus for de to undersøkte fôrtypene. Det ble heller ikke funnet forskjeller i tilvekst for fisken i de to behandlingsgruppene.

Referanser

- Aaen SM, Helgesen KO, Bakke MJ, Kaur K, Horsberg TE (2015) Drug resistance in sea lice: a threat to salmonid aquaculture. *Trends in parasitology*, **31**, 72-81.
- Austreng E, Storebakken T, Åsgård T (1987) Growth rate estimates for cultured Atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture*, **60**, 157-160.
- Bjørn PA, Finstad B (1998) The development of salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*) on artificially infected post smolts of sea trout (*Salmo trutta*). *Can J Fish Aquat Sci*, **76**, 970-977.
- Bogevik AS, Krasnov A, Halten B (2016) Fôr med Biofeed Forte til ørret for redusert lusepåslog. Nofima, http://biofeed.no/wp-content/uploads/2017/01/NOFIMA_rapport-endlig_2016.pdf.
- Brooker AJ, Papadopoulou A, Gutierrez C, Rey S, Davie A, Migaud H (2018) Sustainable production and use of cleaner fish for the biological control of sea lice: recent advances and current challenges. *Vet Rec*, **183**, 383.
- Bugten AV (2018) The effect of membrane filtration on the microbial communities associated with rearing water, gut and skin mucus of Atlantic salmon parr (*Salmo salar*) in recirculating aquaculture systems (RAS). In: *Department of Biotechnology and Food Science*. NTNU.
- Fallang A, Ramsay JM, Sevatdal S, Burka JF, Jewess P, Hammell KL, Horsberg T (2004) Evidence for occurrence of an organophosphate-resistant type of acetylcholinesterase in strains of sea lice (*Lepeophtheirus salmonis* Krøyer). *Pest Manag Sci*, **60**, 1163-1170.
- Gismervik K, Nielsen KV, Lind MB, Viljugrein H (2017) Mekanisk avlusning med FLS-avlusersystem - dokumentasjon av fiskevelferd og effekt mot lus. Norwegian Veterinary Institute, Oslo.
- Gonzalez EB, de Boer F (2017) The development of the Norwegian wrasse fishery and the use of wrasses as cleaner fish in the salmon aquaculture industry. *Fish Sci*, **83**, 661-670.
- Grimnes A, Jakobsen PJ (1996) The physiological effects of salmon lice infection on post-smolt of Atlantic salmon. *J Fish Biol*, **48**, 1179-1194.
- Hamre LA, Glover KA, Nilsen F (2009) Establishment and characterisation of salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer 1837)) laboratory strains. *Parasitol Int.*, **58**, 451-460.
- Helgesen KO, Bakke MJ, Kaur K, Horsberg TE (2017) Increased catalase activity—A possible resistance mechanism in hydrogen peroxide resistant salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*). *Aquaculture*, **468**, 135-140.
- Iversen A, Hermansen Ø, Nystøyl R, Hess EJ (2017) Kostnadsutvikling i lakseoppdrett—med fokus på fôr-og lusekostnader. In: *Nofima rapportserie*. Nofima AS.
- Johnson SC, Albright LJ (1991) Development, growth, and survival of *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae) under laboratory conditions. *J Mar Biol Assoc UK*, **71**, 425-436.
- Kaur K, Helgesen KO, Bakke MJ, Horsberg TE (2015) Mechanism behind resistance against the organophosphate azamethiphos in salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*). *PloS one*, **10**, e0124220.
- Liu Y, Bjelland HV (2014) Estimating costs of sea lice control strategy in Norway. *Prev Vet Med*, **117**, 469-477.
- Samsing F, Oppedal F, Dalvin S, Johnsen I, Vågseth T, Dempster T (2016) Salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*) development times, body size, and reproductive outputs follow universal models of temperature dependence. *Can J Fish Aquat Sci*, **73**, 1841-1851.

Vedlegg 1

Tabell 1 Lengde, vekt og K- faktor for Biofeed og kontroll

Karnummer		N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
BIO1	Lengde 07.08.18	10	26,20	29,00	27,73	1,10
	Lengde 01.10.18	10	31,00	38,10	32,97	2,13
	Vekt 07.08.18	10	180,00	234,00	205,73	19,12
	Vekt 01.10.18	10	287,00	510,00	347,80	63,68
	K-faktor 07.08.18	10	0,83	1,02	0,97	0,06
	K-faktor 01.10.18	10	0,84	1,05	0,97	0,07
BIO2	Lengde 07.08.18	10	25,80	29,40	27,27	1,01
	Lengde 01.10.18	10	30,60	34,10	32,37	1,21
	Vekt 07.08.18	10	181,00	295,00	219,50	35,55
	Vekt 01.10.18	10	303,00	388,00	346,20	27,92
	K-faktor 07.08.18	10	0,98	1,53	1,08	0,16
	K-faktor 01.10.18	10	0,86	1,16	1,02	0,10
BIO3	Lengde 07.08.18	10	25,90	30,40	28,19	1,54
	Lengde 01.10.18	10	31,20	34,80	32,68	1,27
	Vekt 07.08.18	10	174,00	267,00	216,70	34,44
	Vekt 01.10.18	10	300,00	419,00	342,90	36,09
	K-faktor 07.08.18	10	0,89	1,14	0,96	0,08
	K-faktor 01.10.18	10	0,74	1,09	0,98	0,10
BIO4	Lengde 07.08.18	10	26,20	28,90	27,52	0,87
	Lengde 01.10.18	10	31,20	35,80	32,92	1,35
	Vekt 07.08.18	10	188,00	248,00	216,00	21,62
	Vekt 01.10.18	10	281,00	454,00	372,50	51,94
	K-faktor 07.08.18	10	0,95	1,13	1,03	0,07
	K-faktor 01.10.18	10	0,92	1,26	1,04	0,13
CTRL1	Lengde 07.08.18	10	25,90	31,90	28,08	1,80
	Lengde 01.10.18	10	30,50	36,10	33,13	1,70
	Vekt 07.08.18	10	172,00	304,00	225,30	37,89
	Vekt 01.10.18	10	298,00	455,00	366,70	42,01
	K-faktor 07.08.18	10	0,94	1,10	1,01	0,06
	K-faktor 01.10.18	10	0,75	1,25	1,02	0,16
CTRL2	Lengde 07.08.18	10	26,30	31,20	28,99	1,56
	Lengde 01.10.18	10	31,60	36,50	33,90	1,41
	Vekt 07.08.18	10	201,00	258,00	228,60	20,32
	Vekt 01.10.18	10	317,00	421,00	379,40	34,78
	K-faktor 07.08.18	10	0,82	1,10	0,94	0,09
	K-faktor 01.10.18	10	0,86	1,16	0,98	0,08
CTRL3	Lengde 07.08.18	10	25,40	30,10	27,60	1,42
	Lengde 01.10.18	10	29,60	39,80	32,30	2,88
	Vekt 07.08.18	10	180,00	250,00	213,10	26,53
	Vekt 01.10.18	10	286,00	500,00	338,60	61,78
	K-faktor 07.08.18	10	0,92	1,10	1,01	0,06
	K-faktor 01.10.18	10	0,79	1,20	1,01	0,12
CTRL4	Lengde 07.08.18	10	26,30	30,70	28,18	1,42
	Lengde 01.10.18	10	31,50	36,20	33,70	1,67
	Vekt 07.08.18	10	186,00	312,00	234,20	38,68
	Vekt 01.10.18	10	271,00	495,00	371,10	70,12
	K-faktor 07.08.18	10	0,83	1,15	1,04	0,09
	K-faktor 01.10.18	10	0,74	1,25	0,97	0,14

Tabell 2 Variansanalyse (ANOVA) for vekt, lengde og K-faktor

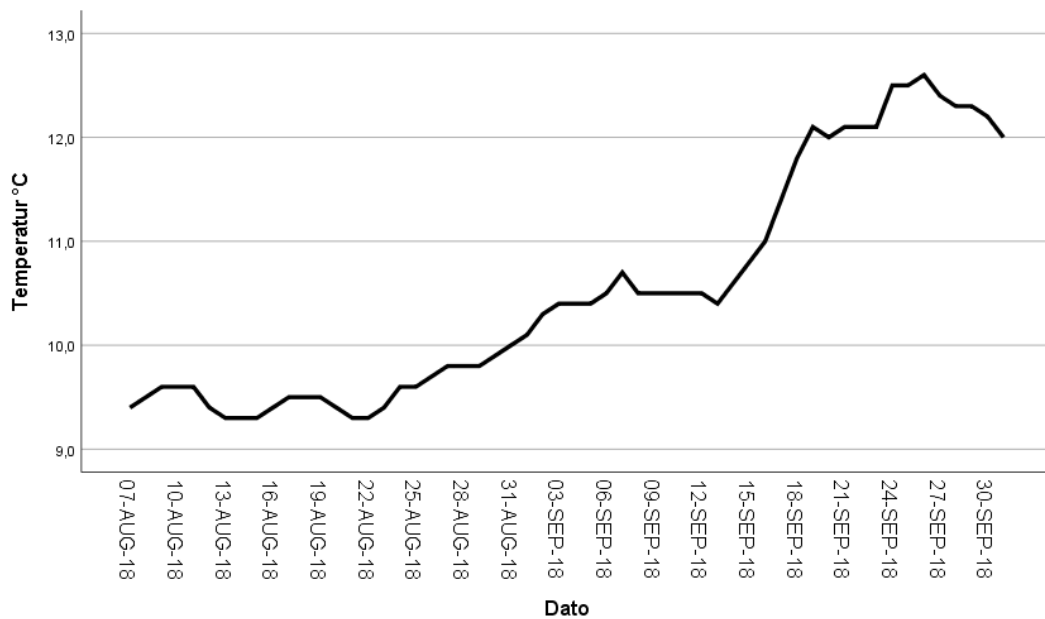
Vekt 07.08.18				Vekt 01.10.18			
Behandling	Mean	Std. Deviation	N	Behandling	Mean	Std. Deviation	N
CTRL	225,3	8,924	4	CTRL	363,95	17,701	4
BIO	214,48	6,028	4	BIO	352,35	13,587	4
Total	219,89	9,118	8	Total	358,15	15,87	8
P=0.091, R2=0.302				P=0.339 R2=0.011			

Lengde 07.08.18				Lengde 01.10.18			
Behandling	Mean	Std. Deviation	N	Behandling	Mean	Std. Deviation	N
CTRL	28,21	0,577	4	CTRL	33,26	0,717	4
BIO	27,68	0,39	4	BIO	32,74	0,274	4
Total	27,95	0,538	8	Total	33	0,575	8
P=0.175 R2=0.163				P=0.222 R2=0.109			

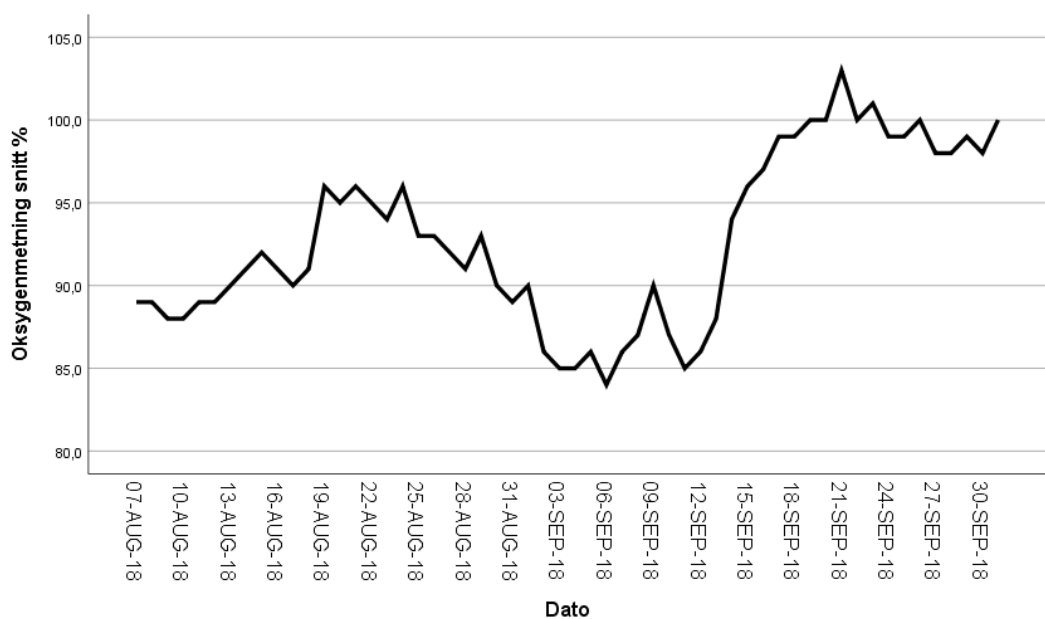
K-faktor 07.08.18				K-faktor 01.10.18			
Behandling	Mean	Std. Deviation	N	Behandling	Mean	Std. Deviation	N
CTRL	1	0,042	4	CTRL	0,99	0,025	4
BIO	1,01	0,057	4	BIO	1	0,036	4
Total	1,01	0,047	8	Total	1	0,029	8
P=0.803 R2=0.154				P=0.596 R2=0.109			

Tabell 3 Total lus på enkeltfisk i Biofeed og kontroll gruppen, og total antall lus i kar

Fisk	Biofeed 1	Biofeed 2	Biofeed 3	Biofeed 4	Kontroll 1	Kontroll 2	Kontroll 3	Kontroll 4
1	22	4	11	11	13	16	4	5
2	17	11	10	15	12	8	11	15
3	8	9	12	12	13	14	18	9
4	9	20	3	6	13	15	12	7
5	18	8	8	14	15	12	15	6
6	12	14	13	6	16	14	22	10
7	12	15	12	8	10	16	10	10
8	6	8	14	10	9	8	43	11
9	15	10	5	17	15	8	6	6
10	11	10	11	14	11	8	19	14
Totalt	130	109	99	113	127	119	160	93



Figur 1 Snittverdier for daglig målt temperatur i forsøksperioden



Figur 2 Snittverdier for daglig målt oxygenmetning i forsøksperioden

