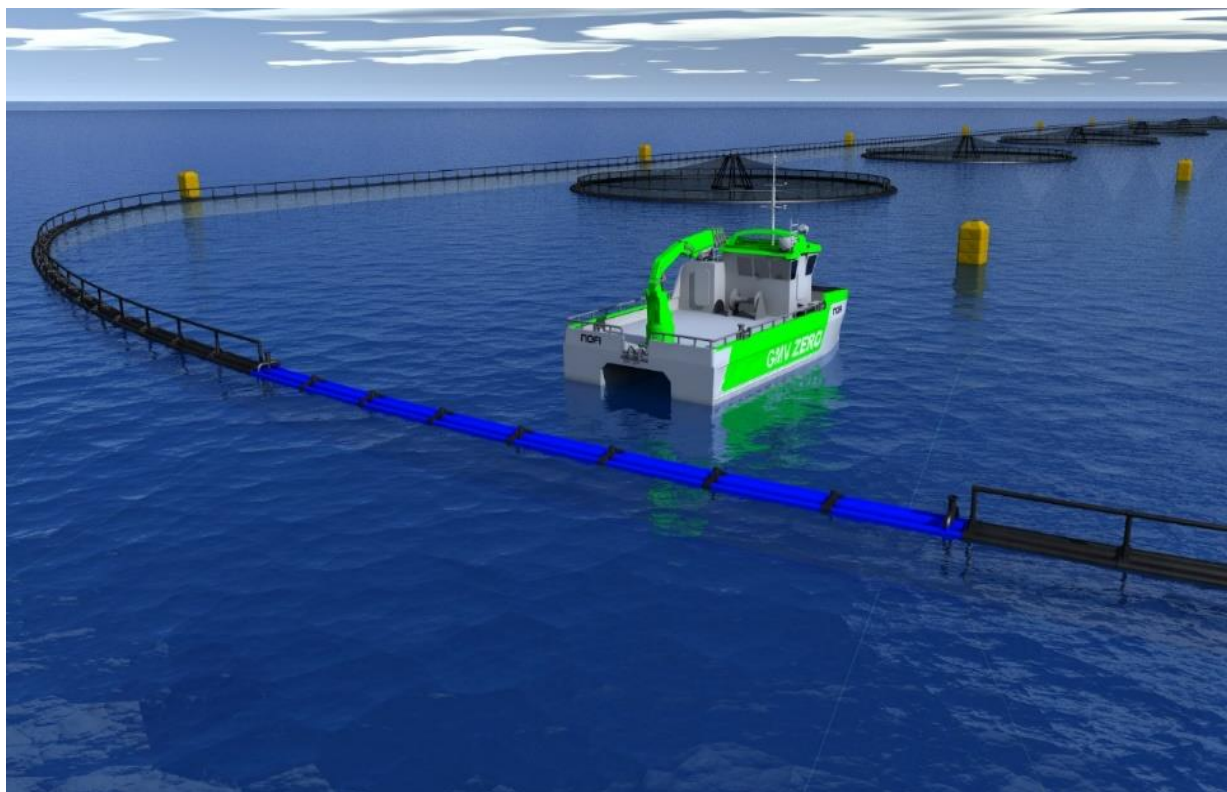


Regulering av salinitet i merd som forebyggende tiltak mot lakselus



Akvaplan-niva AS Rapport: 9290 - 1

This page is intentionally left blank

Rapporttittel**Miljøregulering som forebyggende prinsipper mot lakselus****Forfattere:**

Magnus Drivdal, Kristine Hopland Sperre, Claudia Halsband, Margrethe Nilsen, Thor Jonassen

Akvaplan-niva rapport nr.

9290 - 1

Dato

30.04.2019

Prosjektgruppe:

Karin Bloch-Hansen, Lars Olav Sparboe, Kristine Hopland Sperre, Margrethe Nilsen, Claudia Halsband, Magnus Drivdal, Øyvind Leikvin, Thor Jonassen

Antall sider

49

Distribusjon

Åpen

Oppdragsgiver

FHF

Oppdragsg. referanse

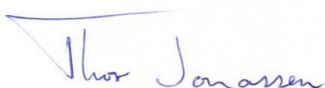
901457

Sammendrag

I motsetning til fastsittende lakselus er de frittlevende larvestadiene svært følsomme for redusert salinitet, og unnviker ferskvannspåvirkede vannmasser allerede ved 32 ppt. Målorganismen i forsøket er derfor frittlevende luselarver og ikke forskjellige stadier av lus påslått laksen. Behandlingen er tilsetning av ferskvann i merd omgitt av en 2 m dyp lense som tiltak mot smitte av luselarver til laks. Forsøksmerden med ferskvannstilførsel var avgrenset av en 2 m dyp lense, for å avgrense og stabilisere et ferskere vannlag nær overflaten. Resultatene viste at det var mulig å etablere en salinitetsgradient i merdene, men denne var relativt avgrenset og varierende, hovedsakelig på grunn av ustabilitet i selve tilførselen av ferskvann. Lusetellinger på laks viste redusert lusepåslag på merdene med ferskvannstilførsel. Fra uke 22 til 37 hvor forholdene var mest stabile var det gjennomsnittlig 48 % mindre bevegelige lus i forsøksmerdene med ferskvannstilsetning, 57 % mindre forekomst av modne hunnlus og 31 % mindre forekomst av skottelus sammenlignet med referansemerdene ute ferskvann. I merder uten ferskvann var det 34 % mindre fastsittende lus sammenlignet med merder med ferskvann.

Prosjektleder

Thor Jonassen

**Kvalitetskontroll**

Atle Foss



INNHOLDSFORTEGNELSE

Bakgrunn.....	5
Beskrivelse av konseptet lagt til grunn for prosjektet.....	6
Forsøksoppsett	7
Etablering av salinitetsgradienten og variasjon i miljøet	8
Materiale og metoder	9
Resultater og vurderinger.....	14
Resultater CTD-sonde.....	20
Strømmåling.....	28
Modellert strøm.....	31
Sammenligning modell og målinger	31
Sammenheng mellom brakkvannslag, vanntilførsel og strøm	32
Endringer etter første måleperiode.....	32
Oppsummerende vurderinger og konklusjoner på miljø.....	33
Effekt på fastsittende- og planktoniske stadier av lakselus.....	34
Forekomst av luselarver fra vannprøver	34
Resultater og diskusjon	38
Registrering av lakselus og skottelus på laks.....	41
Konklusjoner.....	43
Referanser	44
Vedlegg.....	46

Bakgrunn

I motsetning til fastsittende lakselus er de frittlevende larvestadiene svært følsomme for redusert salinitet, og unnviker ferskvannspåvirkede vannmasser allerede ved 32 ppt. Målorganismen i forsøket var derfor frittlevende luselarver og ikke forskjellige stadier av lus påslått laksen. I prosjektet i samarbeid med Arnøy Laks og Akvaplan-niva som FoU-partner ble effekten av tilsetning av ferskvann i merd som tiltak mot smitte av luselarver til laks undersøkt.

Kunnskap om hvordan miljøet påvirker luselarvenes overlevelsessevne er en naturlig tilnærmingstype i utviklingen av strategier og teknologi som forebygger mot lus. Prosjektet vil ved bruk av kjent teknologi etablere en langvarig salinitetsgradient på oppdrettslokalitet som gjør at luselarvene svekkes eller dør, noe som tidligere er observert som respons på redusert salinitet i lab-forsøk. En forventer at etablering av et slikt miljø rundt et oppdrettsanlegg vil utgjøre en kostnadseffektiv metode for forebygging mot infeksjon av lakselus, uten negative effekter på fiskevelferd, HMS og øvrig drift.

Resultatmål:

Målsettingen med prosjektet var å dokumentere om etablering av en permanent salinitetsgradient over et oppdrettsanlegg kan forebygge mot lus og redusere håndtering, mekanisk og medikamentell behandling av oppdrettslaksen.

Delmål:

- 1) Å dokumentere forebyggende effekt mot lakselus gjennom måling av endringer i lusepåslag og populasjonsstrukturen av lakselus-larver som følge av den etablerte salinitetsgradienten.
- 2) Å dokumentere om næringens krav til fiskevelferd ivaretas for laks.
- 3) Å dokumentere eventuelle effekter på produksjonsbiologi og HMS.

Delmålene 2 og 3 rapporteres i egne delrapporter (Akvaplan-niva rapport 9291-1 og 9292-1).

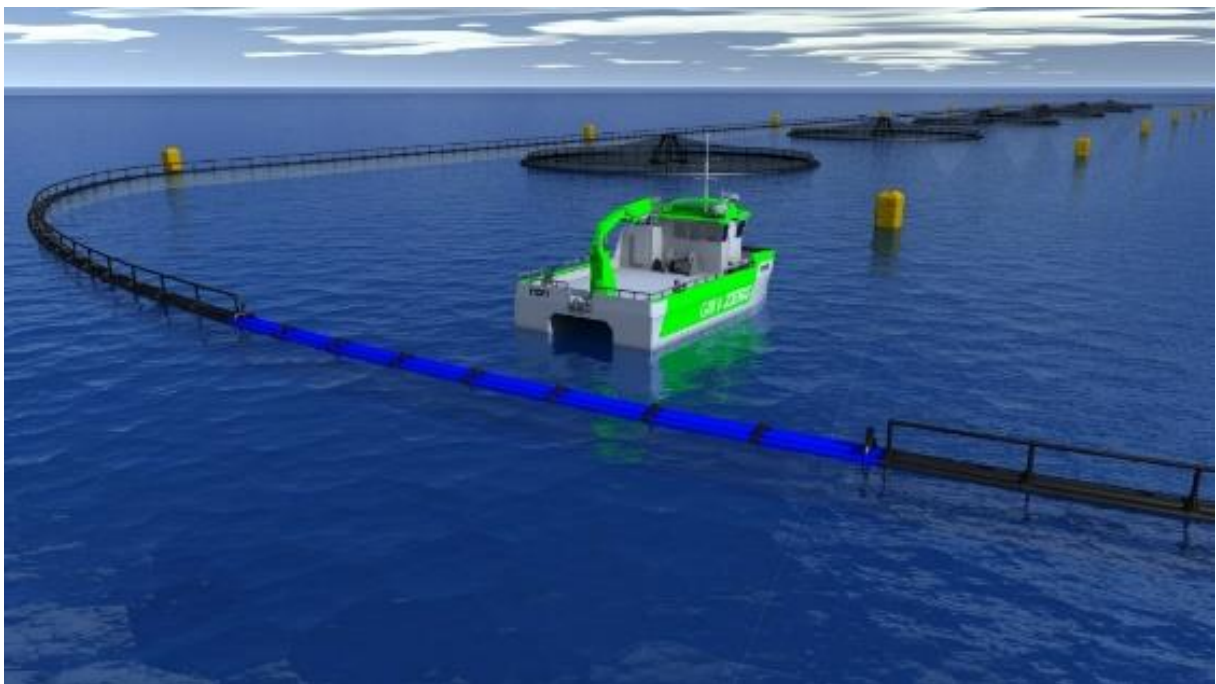
Lakselusas fysiologiske respons på ferskvann og lav salinitet, spesielt den lave toleransen på frittlevende stadier og egg, er vel dokumentert i kontrollerte laboratorieforsøk, og er forutsetningen som ligger til grunn for konseptet med ferskvann som forebyggende tiltak. I tillegg foreligger det felldata fra villaksens vandringsmønster i ferskvannspåvirkede fjordsystemer som underbygger hypotesen om at redusert salinitet forebygger infeksjon av lakselus, og flere oppdrettere har erfaring med at det er mindre lus på oppdrettslaks på lokaliteter beliggende i fjorder med stor ferskvannsavrenning. Dette understøttes også av forskningsresultater som viser redusert påslag ved redusert salinitet (Genna m.fl. 2005) og at ferskvanngradienten som etableres i slike fjorder er gunstig mht. å forebygge påslag og utvikling av lakselus (Heuch et al. 2009). Laks vil oppholde seg i øvre vannlag i tilknytning til fôring og fylling av svømmeblære, og salinitet synes ikke å påvirke denne adferden (Oppedal et al 2011). I henhold til Groner m.fl. (2016) forventer en at slike forhold vil påføre fastsittende lus osmotisk stress som igjen vil redusere overlevelsessevnen. Prosjektet vil derfor dokumentere hvordan saliniteten i overflatelaget blir påvirket gjennom tilførsel av ferskvann i merd, og hvilke effekter dette har på endringer i populasjonssammensetningen av lakselus. Disse dataene blir sammenstilt med ordinære lusetellinger fra laks for å beskrive forebyggingseffekten gjennom redusert infeksjonspress.

Beskrivelse av konseptet lagt til grunn for prosjektet

Arnøy Laks har utviklet et konsept for fullskala styring av salinitet på et oppdrettsanlegg, som skal imitere et ferskvannspåvirket fjordsystem med det formål å redusere smittepresset fra luselarver. Innvasjonen består av et akvakulturanlegg med kontinuerlig tilførsel av ferskvann fra en nærliggende elv og har integrert en ferskvannslense (basert på siste generasjons oljelenseteknologi levert av NOFI, Tromsø) i fortøyingssystemet med to meters dybde som omringer merdene og holder på ferskvann (Bilde 1). Ferskvann og brakkvann har mindre egenvekt enn sjøvann med full saltholdighet og vil således flyte opp, og fanges innenfor en tett lense i overflaten. En hydrologisk studie gjennomført av Norconsult viser at over 90 % av alle lokalitetene i Troms fylke har nærhet (under 20 km) til ikke-anadrome vassdrag av en viss størrelse, som muliggjør levering av vann med løsninger som er vanlig for norske vannverk. Dette viser realiserbarheten av et slikt konsept.

En forventer at et slikt konsept vil utgjøre en kostnadseffektiv metode for forebygging mot infeksjon av lakselus, uten negative effekter på fiskevelferd, HMS og øvrig drift.

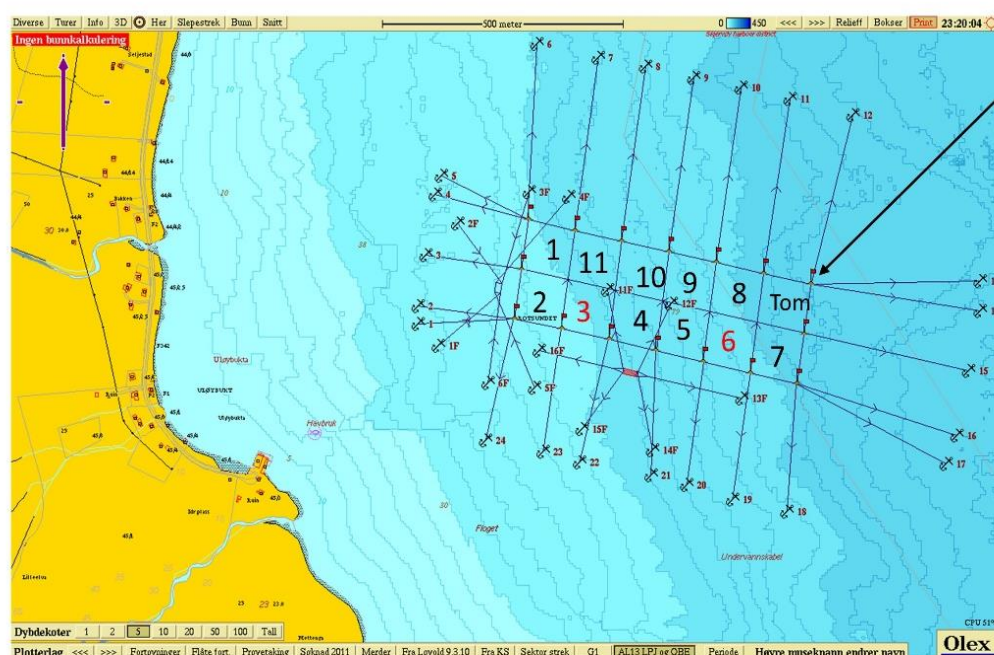
Det er søkt utviklingstillatelse for etablering av konseptet i full skala, men for å korte ned steget mellom dagens forskning i lab-skala som konseptet baserer seg på, og fullskala utvikling, vil en teste konseptet i et FoU-prosjekt avgrenset til to forsøksmerder og to åpne referansemerder uten ferskvann på lokaliteten Uløybukt i Skjervøy kommune i Nord-Troms i 2018 av Arnøy Laks i samarbeid med Akvaplan-niva som FoU-partner.



Bilde 1. Skisse av fullskala anlegg med ferskvannslukk med nyutviklet hybridlenseteknologi.

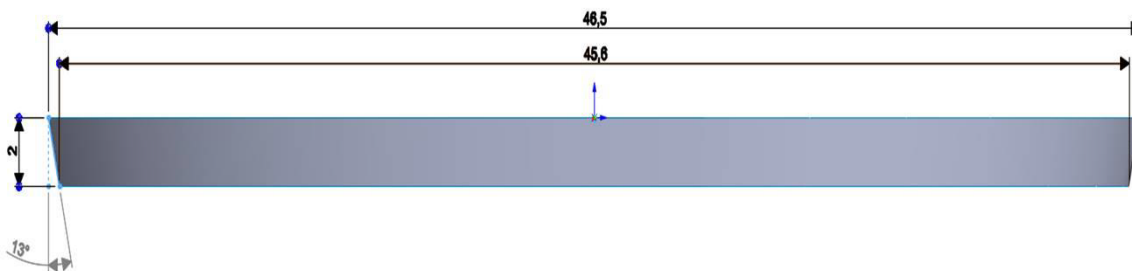
Forsøksoppsett

På lokaliteteten Uløybukt i Nord-Troms var totalt 11 merder med luseskjørt à 140 omkrets med fisk på lokaliteten satt ut våren og høsten 2017 (Figur 1). Fisken fra vår-utsettet ble benyttet i forsøket. Luseskjørtene i forsøksmerdene og referansemerdene ble fjernet 31. mai 2018. De to forsøksmerder (merd 3 og 4) ble omkranset av en 2m dyp lense/skjørt 4. juni og tilført ferskvann (ca. 20 liter per sekund) i overflaten fra 4. juli gjennom en 180 mm rørledning. 12. juli ble det på utløpet av vannrørene til de to forsøksmerdene satt på et T-formet silrør for jevnere fordeling av ferskvannet i overflaten. I de to referansemerdene (6 og 7) var det fri vanngjennomstrømning og ingen ferskvannstilførsel. Salinitet, temperatur og strøm ble kontinuerlig overvåket fra 12. juni og det ble tatt daglige sondetrekking for logging av salinitet fra 0-10 m dyp i og utenfor forsøksmerdene for å dokumentere miljøpåvirkningen fra ferskvannet. 23. august ble dybdeplasseringen av CTD-SRDL sondene justert opp for å øke oppløseligheten på loggingen i det øvre vannlaget. Forekomsten av luselarver ble registrert med ca. 1 mnd. mellomrom fra forsøksmerdene, referansemerdene og utenfor anlegget, første gang 25. juli. I tillegg ble det gjort regelmessige registreringer for dokumentasjon av fiskehelse og fiskevelferd, ordinære lusetellinger, registrering av GSI ved utslakting av fisken for vurdering av effekt av ferskvannsinnblanding i forhold til kjønnsmodning, samt dokumentert effekt på produksjonsbiologi og HMS rapportert i egne delrapporter (Akvaplan-niva rapport 9291-1 og 9292-1).



NØ – Forankringsbøye:
CTD-stasjon og Strømmåler

Figur 1. Lokalitet og oversikt over anlegg med målestasjoner. Forsøksmerd med ferskvannstilførsel er merd 3, hvor det utføres daglige CTD-trekking og er montert CTD-SRDL stasjoner inne i merd ved senter og ved merdkant. Merd 6 er kontroll-merd, med daglig CTD-trekking og fast CTD-SRDL stasjon ved merdkant. Ved Nord-Østre forankringsbøye er det CTD-stasjon og Strømmåler.



Bilde 2. Skisse av merd påmontert lense på ytterkant av flytering.

Etablering av salinitetsgradienten og variasjon i miljøet

Om det dannes et mindre saltholdig vannlag i overflaten, og evt. dybden og saltholdigheten i dette laget er avhengig av flere faktorer, som mengden vann tilført, blanding av vind/bølger, turbulens under kanten av luseskjørtet og innblanding av saltere vann nedenfra. Både innblanding nedenfra og turbulens langs luseskjørtet vil avhenge av strømstyrke ved lokaliteten.

Målingene beskrevet i denne rapporten er primært tatt for å overvåke saltholdighet i forsøksmerd, samt kontrollmålinger for å sammenligne med naturlig miljø. For selve overvåkningen er det tatt i bruk to forskjellige typer instrumenter:

- 1) CTD-sonde, som trekkes manuelt i vannsøylen og dermed gir et øyeblikksbilde på temperatur, saltholdighet og oksygen i vannsøylen. I dette prosjektet er sonde-trekk utført daglig av de ansatte ved lokaliteten, ved fire forskjellige målepunkter.
- 2) CTD-SRDL. Disse måler Temperatur og saltholdighet kontinuerlig gjennom måleperioden, og lagrer data med 10 minutters intervaller. CTD-SRDL er koblet i kjeder og måler i faste dyp. På lokaliteten er det etablert 3 forskjellige kjeder, to i forsøksmerd (merd 3) og en kontroll ved merd 6.

I tillegg til hydrografiske målinger er det utført strømmålinger ved et kontrollpunkt utenfor forsøksmerd for å vurdere hvor stor påvirkning strømmen har på saltholdighet og dybde på ferskvannslaget i forsøksmerden. Strømmåleren måler på 16m dyp og logger hvert 10 min.

Områdebeskrivelse

Anlegget ligger i Uløybukta i Skjervøy kommune, Nord-Troms. Lokaliteten er godt skjermet av Uløya mot vest og fastlandet mot øst, men det er noe mer eksponering for vind, bølger og strøm i nord-sør retning.

Forsøksmerden med ferskvannstilførsel er merd 3 og kontrollmålinger er tatt ved merd 6 (CTD-sonde og CTD SRDL) samt ved nord-østre fortøyningsbøye (CTD-sonde). Strøm-måleren er også festet på nord-østre fortøyningsbøye (Figur 1).

Materiale og metoder

Instrumenter og målemetoder

CTD sonde

CTD sonden er av typen SD204 levert av SAIV AS. CTD målingene utføres ved at en CTD-sonde fires ned til ca. 10m dyp og trekkes (for hånd) langsomt opp igjen. CTD sonden måler temperatur, trykk (dyp) og salinitet. Siden sonden måler ved en gitt frekvens, her satt til 1Hz, trekkes den jevnt og med lav fart for å få gode målinger med høy oppløsning i vannsøylen. Ved Uløybukt er det 2 målestasjoner i selve forsøksmerden (senter og merdkant) for å overvåke utviklingen av brakkvannslaget og gi et detaljert øyeblikksbilde av den vertikale gradienten og sprangsjiktet i saltholdighet. I tillegg til overvåkningen gir disse målingene nyttig informasjon til de som skal ta prøver av lus.

Ved Uløybukt er det tatt daglige CTD-trekk ved alle de 4 målestasjonene (Figur 1).

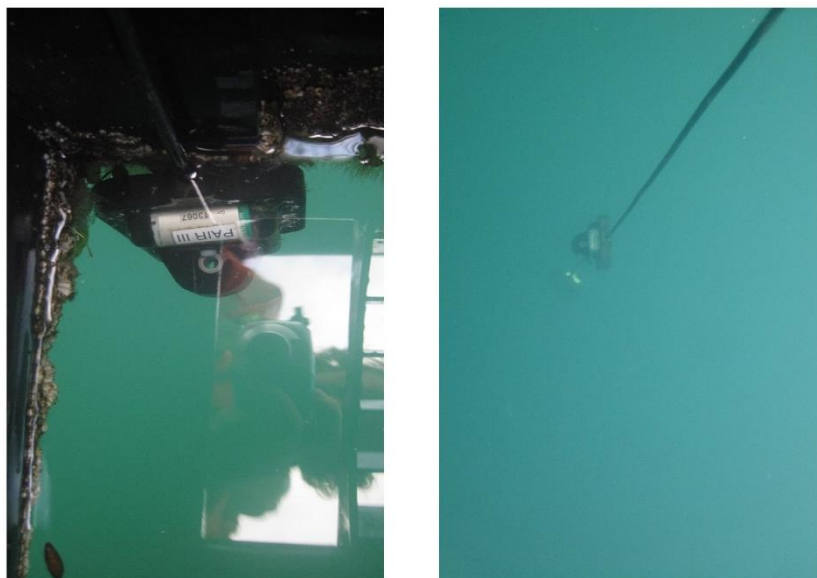


Figur 2. CTD-SD204 (SAIV AS) som klargjøres for prøvetaking.

CTD-SRDL

CTD-SRDL er små CTD-enheter som har sensorer som registrerer temperatur, saltholdighet og trykk som CTD sonden (Figur 3). Disse er utviklet av Universitetet i St. Andrews i Skottland og var opprinnelig ment å festes på ryggen til sel for å måle langs deres svømmerute (<http://www.meop.net/meop-portal/ctd-srdl-technology.html>). For formålet i dette prosjektet

ble 13 slike enheter rekonfigurert og seriekoblet etter hverandre i 3 forskjellige kjeder. Hver kjede har en felles batteri boks som er festet over vann, mens kjeden henger fritt i vannsøylen på hver målestasjon (2 i forsøksmerd en i kontrollmerd; se Figur 1). Hver CTD-SRDL måler altså saltholdighet og temperatur i et fast dyp, og alle tags ble konfigurert til å logge data hvert 10. minutt. På denne måten får vi tidsserier og altså et mer kontinuerlig bilde på utviklingen av brakkvannslaget enn vi hadde fått med kun CTD sonde-trekkene.



Figur 3. CTD-SRDL sett fra overflaten ved festepunkt ved merdkant (venstre) og CTD-SRDL kjede med flere enheter nedover i vannsøylen (høyre).

For målestasjonen i senter av forsøksmerden ble en kjede med 7 seriekoblede CTD-SRDL brukt, mens for kjedene ved kant av forsøksmerden og ved kontrollmerden ble det brukt 3 seriekoblede CTD-SRDL bokser. En oversikt over de tre målestasjonene med opprinnelsesdyp er gitt i Tabell 1 under. Siden ferskvannslaget viste seg å være grunnere enn først forventet ble dybden til CTD-SRDL kjedene justert etter første avlesning (se Tabell 4).

Tabell 1. Oversikt over CTD-SRDL enheter og dyp ved kjede nr. 1 (Merd 3/ Forsøksmerd, senter), 2 (Merd 3/Forsøksmerd, kant), 3 (Merd 6, Referansemerd)

Serienr.	Kjede nr.	Dyp (m)
12857	1	0,5
12887	1	1
12888	1	1,5
12882	1	2,0
12885	1	2,5
12881	1	3,5
12886	1	5
12883	2	0,5

12856	2	1
13069	2	2,5
13067	3	1,0
13071	3	2,5
12884	3	3,5

Strømmåler

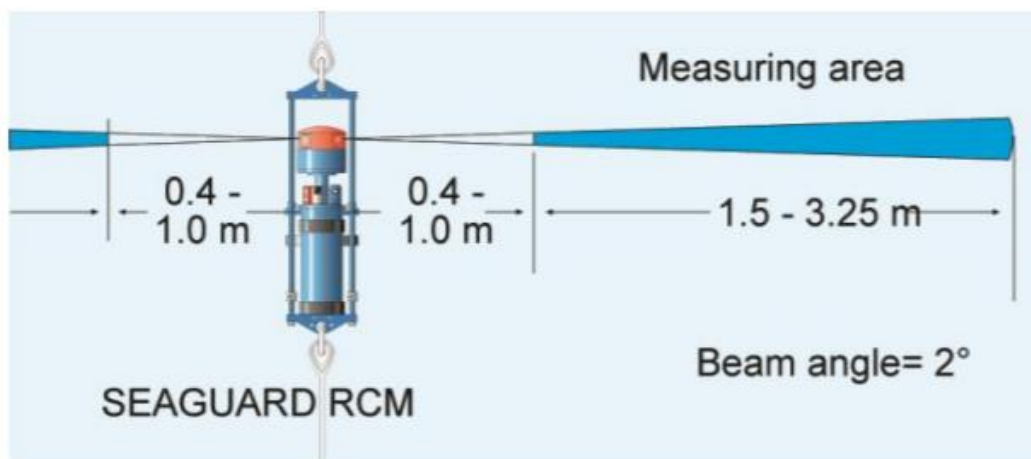
Strømmåleren er av typen Seaguard I og er produsert av Aanderaa AS, Bergen, Norge. Seaguard er en akustisk strømmåler som måler vannmassens hastighet i et punkt ved hjelp av frekvensforskyvningen til det reflekterte lydsignalet (dopplereffekten), fra partikler i vannet. Dette skjer i samme dypnivå som sensorhodet er, slik at måle-området strekker seg mellom 1.5 og 3.25 m horisontalt ut fra selve instrumentet.

Tabell 2. Innstillinger og konfigurasjon til strømmåleren ved Uløybukt.

Posisjon	69N51.637, 20E43.305
Dyp ved posisjonen	100 m
Måledyp	16 m
Dato måleserie	12.06. – 28.11.2018
Varighet	168 dager
Antall målinger	
Målerintervall	10 min
Type måler	Akustisk punktmåler
Modell	Aanderaa Seaguard I
Målerprinsipp	Doppler
Serienr	1370
Nøyaktighet	+/- 0.15 cm/s
Frekvens	1.9 – 2.0 MHz
Varighet midlingsperiode	150 s
Antall rådatamålinger pr. aggregert dataverdi	150 s
Kalibrering	Akvaplan-niva
Instrumentlogg	Akvaplan-niva



Figur 4. Aanderaa Seaguard I etter første måleperiode fra 12. juni til 23. august 2018 ved Uløybukta (foto: Øyvind Leikvin, 23.08.2018).



Figur 5. Illustrasjon av måleområdet til Aanderaa Seaguard I (kilde: www.aanderaa.com).

Resultater og vurderinger

Her presenteres data for måleperioden fra utsett av instrumenter 12/6-2018 til endelig opptak av instrumenter. For CTD-SRDL er perioden delt i to, siden data ble lest av 23/8 og dyp på kjedene justert basert på en vurdering av målingene til da (se Tabell 1 sammenlignet med Tabell 4 og diskusjon rundt Tabell 4)

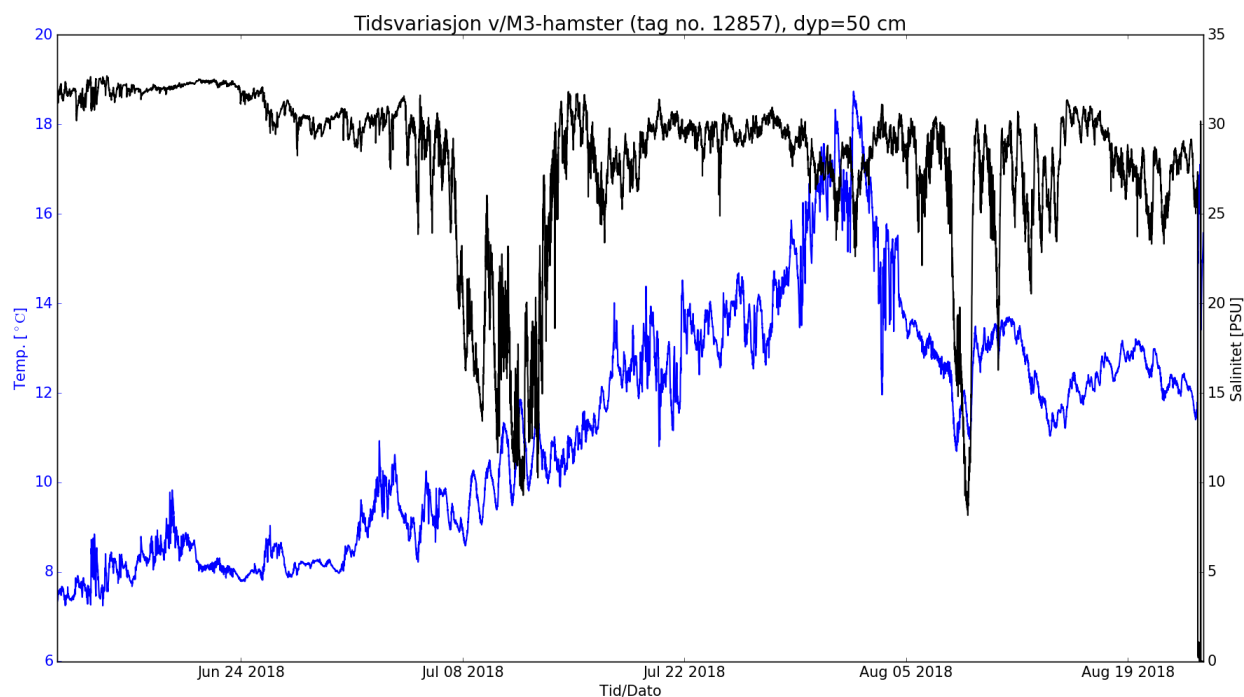
Hydrografi

Siden saltholdighet er nøkkelfaktoren for miljø i dette prosjektet er det brukt to typer komplementerende CTD-loggere. CTD-sonden gir oss god oppløsning i vertikalen, men bare et øyeblikksbilde, mens CTD-SRDL enhetene som hver for seg kun måler i ett dyp gir oss kontinuerlige tidsserier gjennom hele perioden med 10 minutters oppløsning. I dette underkapitlet presenteres og sammenstilles data fra begge instrumenter.

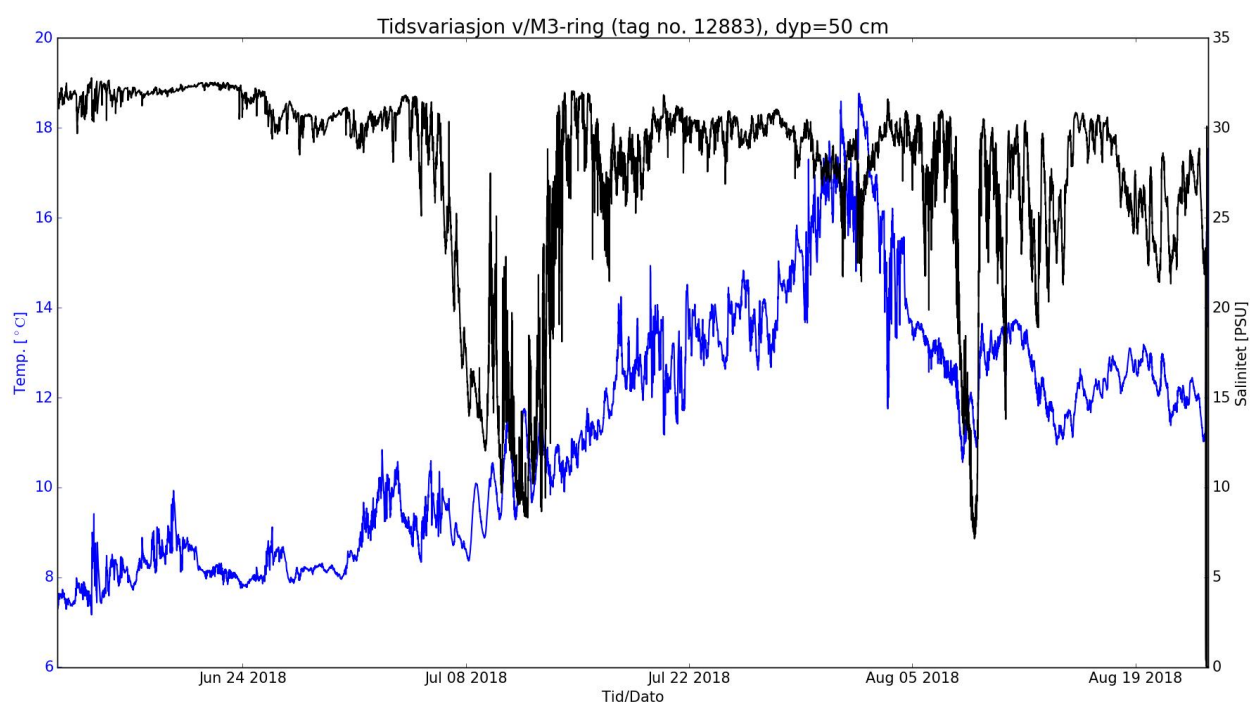
Resultater CTD-SRDL 12/6 – 23/8

Under, i Figur 6 og 7 vises tidsserier med saltholdighet og temperatur fra de to kjedene som ble plassert inne i forsøksmerden. Fra de øverste målepunktene (se Figur 6 for senter og Figur 7 for merdkant) som målte på ca. 0,5 meters dyp, ser man en veldig lik utvikling i saltholdighet. Begge tidsseriene viser at ferskvannstilførselen til forsøksmerden ikke gir en sterk permanent påvirkning i hele perioden så dypt ned som 0,5m, men at saltholdigheten fluktuierer og at det er perioder hvor brakkvannslaget tydelig trenger ned til dette dypet. Det er imidlertid en svak endring fra ca. rundt 24 juni, hvor saltholdigheten ser ut til å synke fra et snitt på over 30 PSU til like under 30 PSU. Denne svake endringen i tid ser man også i referansemålingen (Figur 10, så den er antageligvis et resultat av avrenning og evt. groe på instrumentene. Fra måleserien fra øverste målepunkt (1m) i referansemerden (Figur 10) ser man tydelig mindre fluktuasjon i saltholdighet i forhold til seriene fra 1m i forsøksmerden (Figur 8 og 9) som illustrerer at ferskvannstilførselen gir endringer på 1m, men at effekten er svak og fluktuierer.

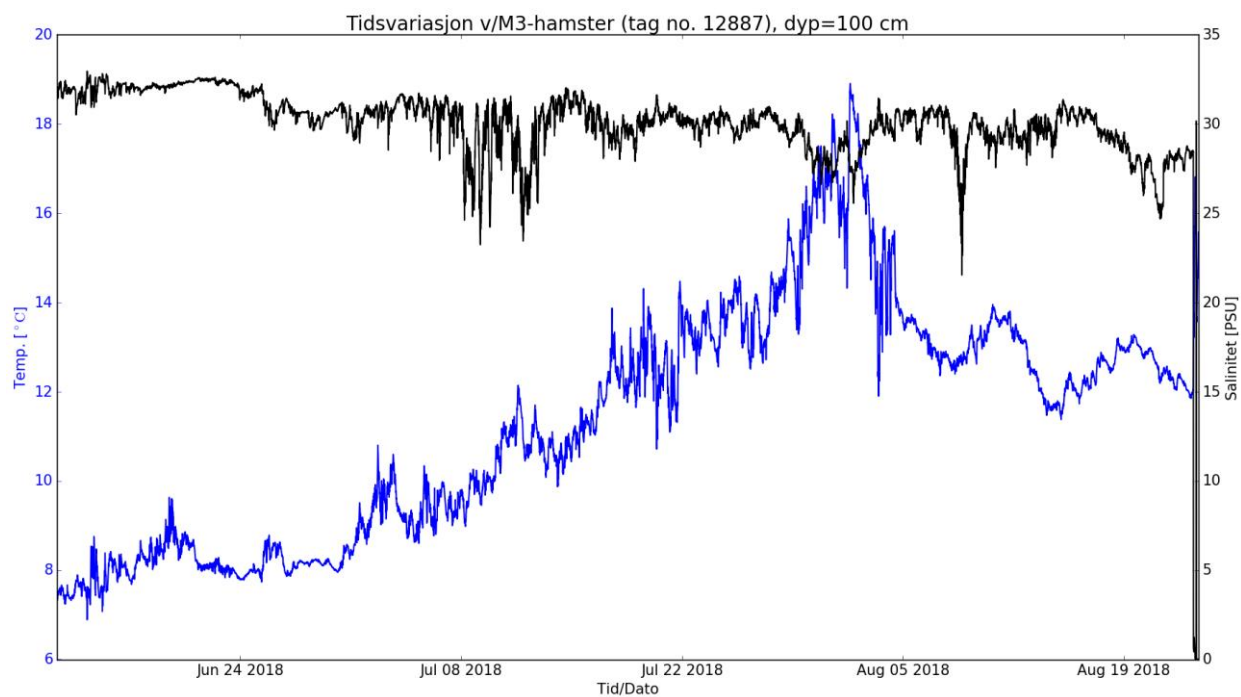
To perioder med stor påvirkning fra ferskvannstilførsel som peker seg tydelig ut i måleseriene er perioden ca. 7/7-14/7 og ca. 7/8-11/8, og utsnitt av disse kortere periodene er vist i hhv. Figur 11 og 12. I begge figurene er måleseriene fra øverste lag i senter (sort strek) av merden sammenlignet med måleseriene fra merdkant. I disse periodene er minimum saltholdighet helt nede i ca. 10 PPU på 0,5 m dyp, og vi har da et veldig ferskt lag hele veien ned til 0,5m. Fra måleseriene fra samme kjede, men på 1 meters dyp vist i Figur 8 og 9 ser vi også noen utslag i disse periodene, men mye svakere, som indikerer et sprangsjikt mellom 0,5 og ca. 1m dyp her.



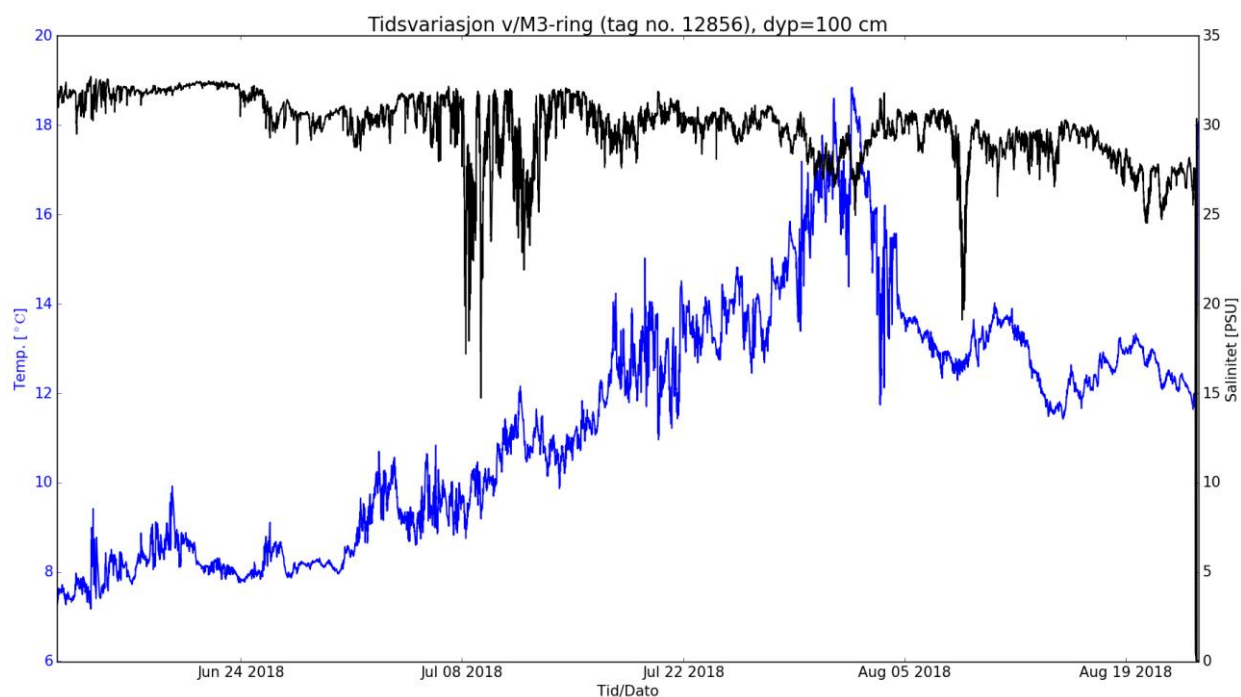
Figur 6. Måleserien fra øverste (0,5m) CTD-SRDL i senter av forsøksmerd. Temperatur er vist i blått (venstre y-akse) og saltholdighet i svart (høyre y-akse).



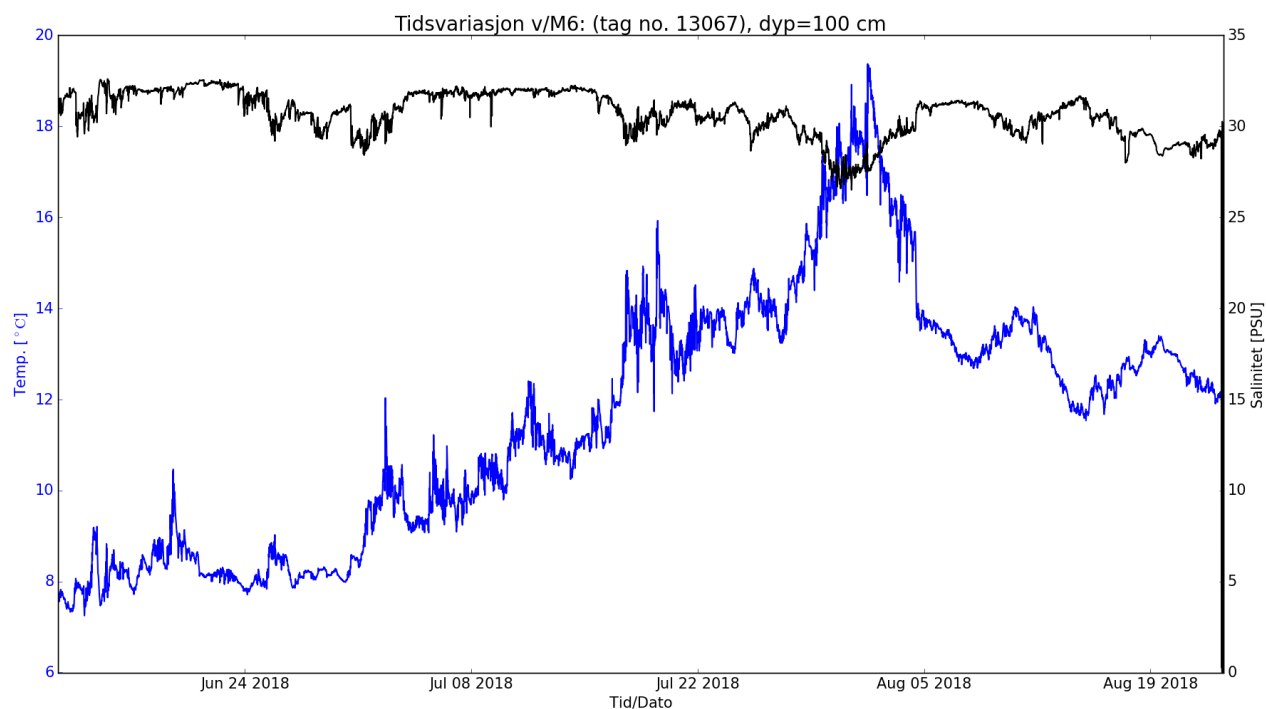
Figur 7. Måleserien fra øverste (0,5m) CTD-SRDL i kant av forsøksmerd. Temperatur er vist i blått (venstre y-akse) og saltholdighet i svart (høyre y-akse).



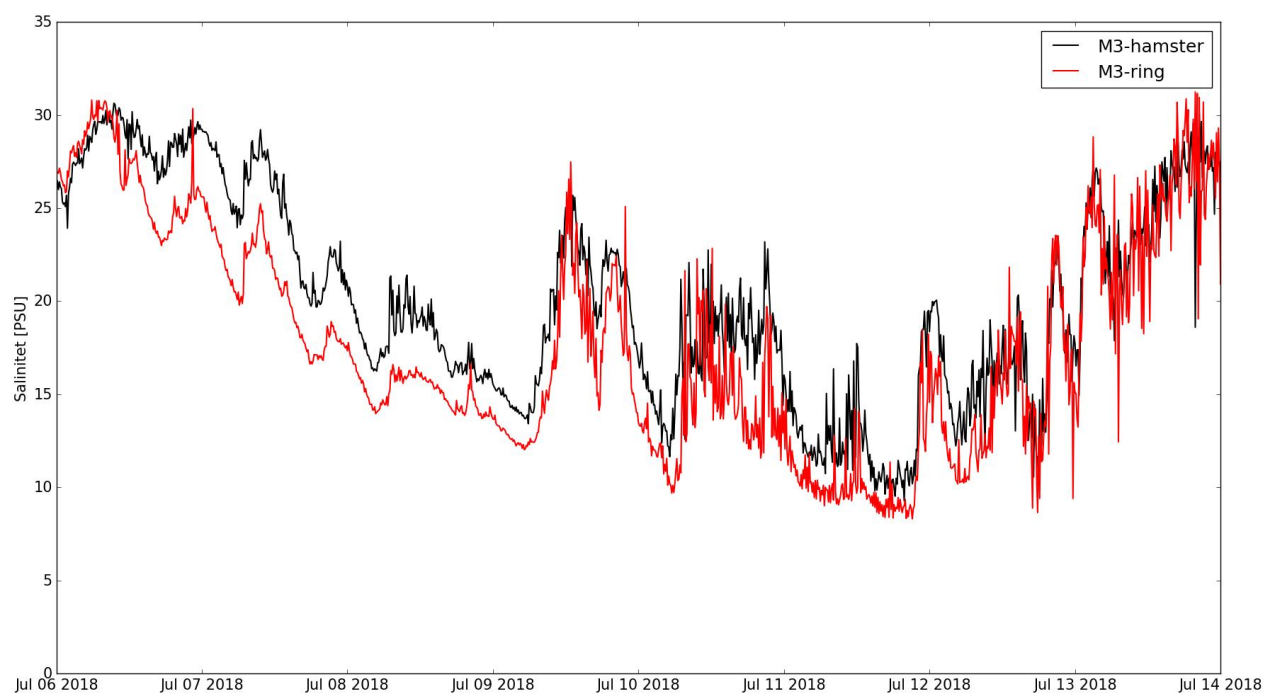
Figur 8. Måleserien fra nest øverste (1m) CTD-SRDL i senter av forsøksmerd.



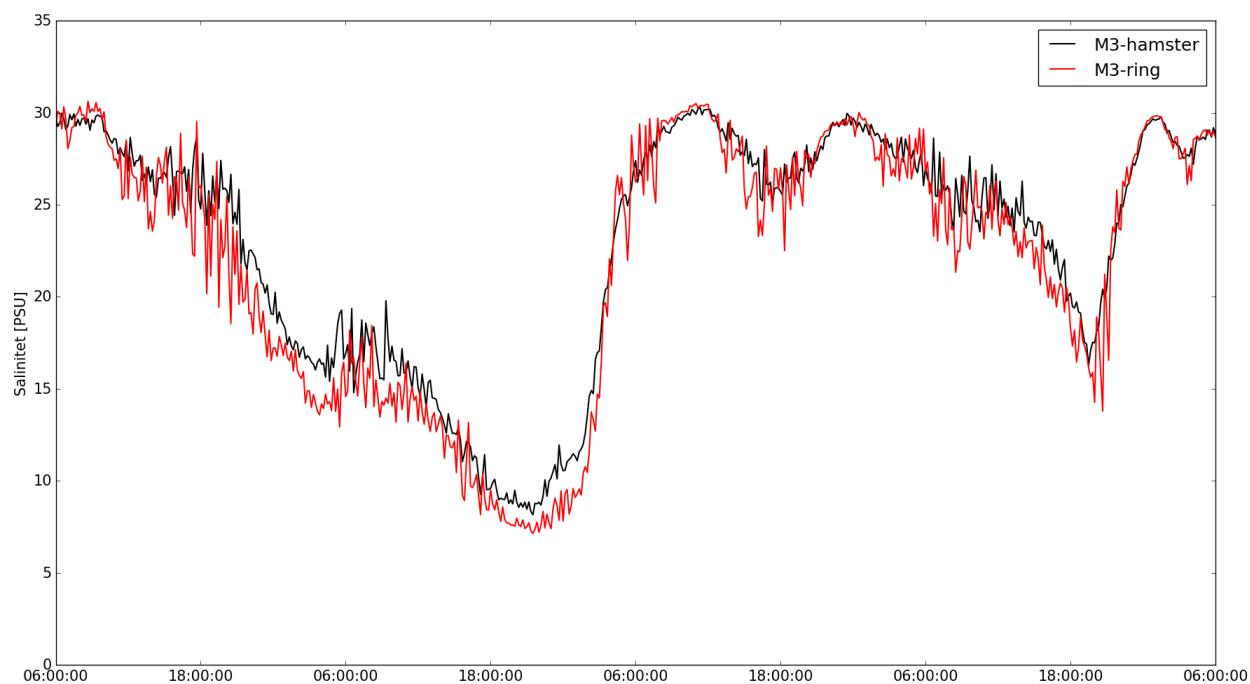
Figur 9. Måleserien fra nest øverste (1m) CTD-SRDL i kant av forsøksmerd.



Figur 10. Måleserien fra øverste (1m) CTD-SRDL i kant av referansemerd.



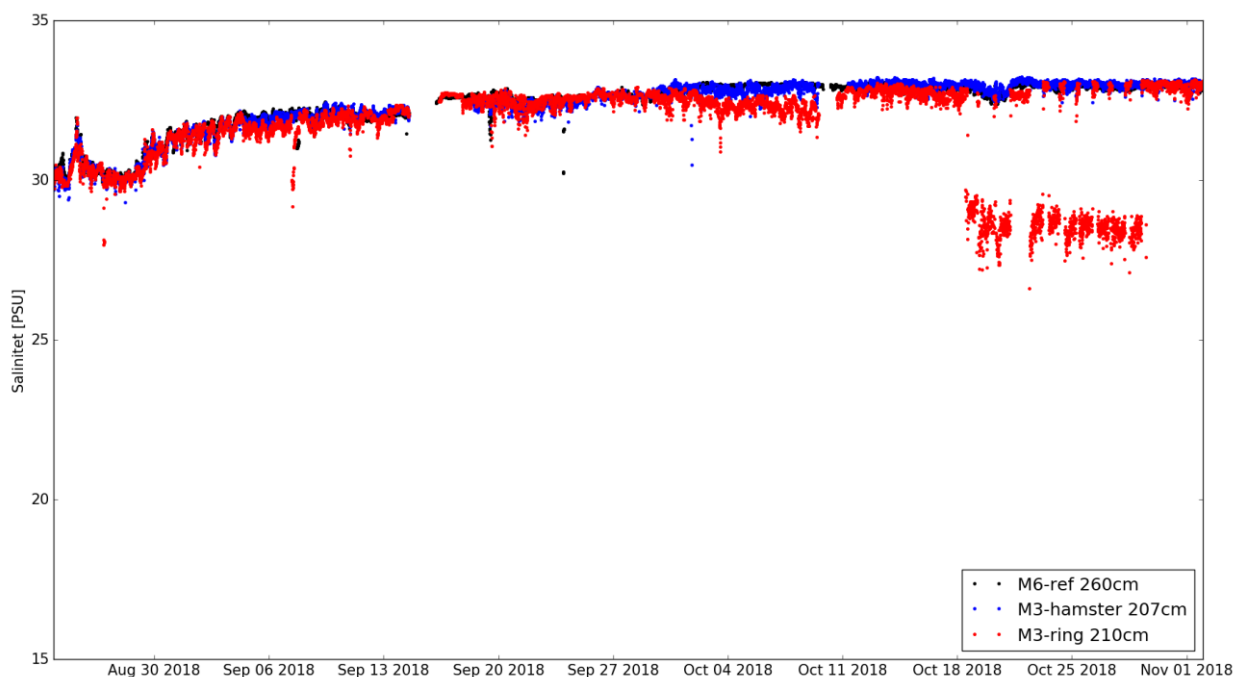
Figur 11. Måleserier saltholdighet fra forsøksmerden på 0,5m for perioden 6/7-14/7. Svart farge indikerer målingene i senter og rød farge indikerer målingene ved merdkant.



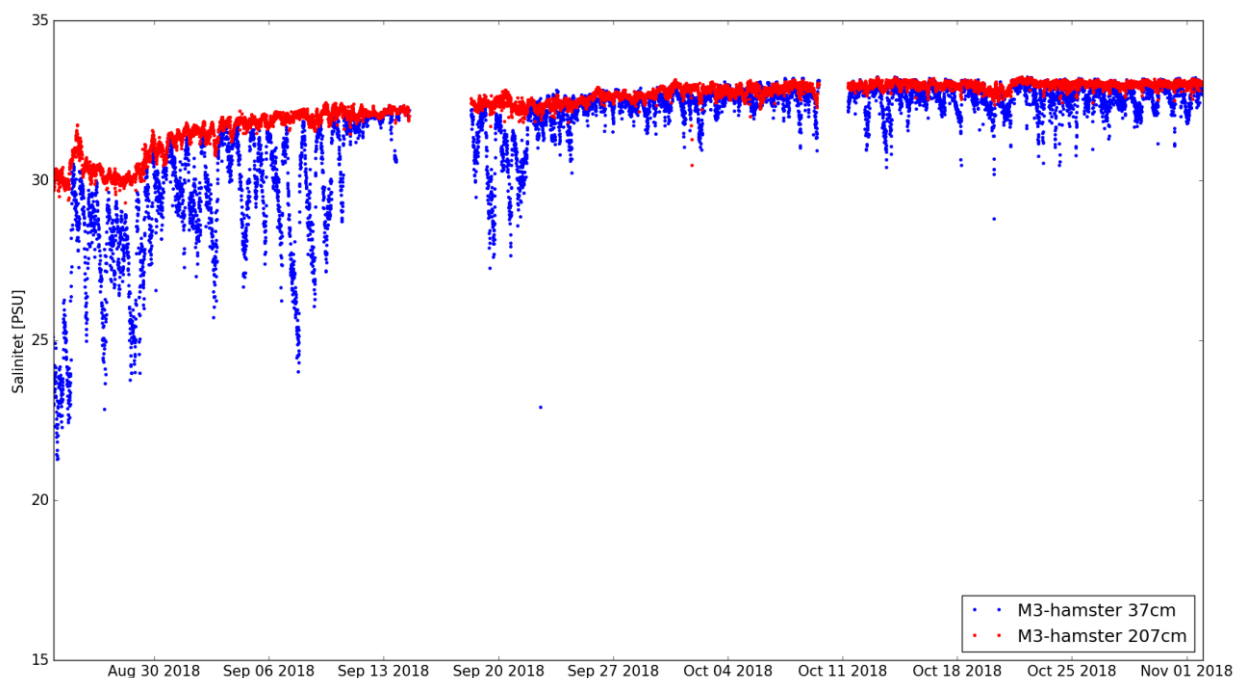
Figur 12: Måleserier saltholdighet fra forsøksmerden på 0,5m for perioden 7/8-11/8. Svart farge indikerer målingene i senter og rød farge indikerer målingene ved merdkant.

Resultater CTD-SRDL 23/8 – 2/11

En sammenligning av tidsutviklingen i salinitet på dyp under 2m (under brakkvannslaget med ferskvannspåvirkning) er vist i Figur 13 under. På disse dypene er saliniteten som forventet veldig lik mellom forsøksmerd (M3) og referanse (M6), og kan brukes som en referanse til videre sammenligning mellom stasjonene. Det er imidlertid en periode rundt 18-30/10 hvor loggeren ved M3-ring på 2.07m dyp ser ut til å være påvirket av forstyrrelser, og data fra denne perioden fra denne loggeren må sees bort ifra. En annen ting som bør merkes i Figur 13 er at det er to korte perioder med manglende data (ca. 14-16/9 og 9-10 oktober) hvor det ble gjennomført avlusning og målerne ble løftet ut av vannet. Siden målerne nå er plassert nær overflaten og tettere sammen, er de mer utsatt for støy/forstyrrelser. På grunn av dette er kun måleren ved M3 senter (hamster) på 37cm presentert i Figur 14 siden den viser samme trend som de andre nær overflaten i M3 og har mindre spiker/uteliggere. Sammenlignet med saltholdighet på 207 cm har målingene på 37cm i perioder lavere salinitet, men samtidig er det store fluktuasjoner. Noe av variabiliteten her må tilskrives forstyrrelser fra overflaten, men det generelle bildet viser gjennomsnittlig en del ferskere vann nær overflaten i begynnelsen av perioden. Etter første avlusning ca 16/9 er det høyere saltholdighet (>25PSU) på det øverste målepunktet og målingene på de to dypene ser mye likere ut. For andre periode med utsett ser man en generelt svakere påvirkning av ferskvannstilførsel.



Figur 13. Salinitet på dyp under 2m (under brakkvannslaget med ferskvannspåvirkning) i merd 3 og 6. Det er liten forskjell i salinitet på disse dypene (de lave verdiene ved M3-ring (rød farge) 18/10 – 31/10 skyldes forstyrrelser på instrumentet)



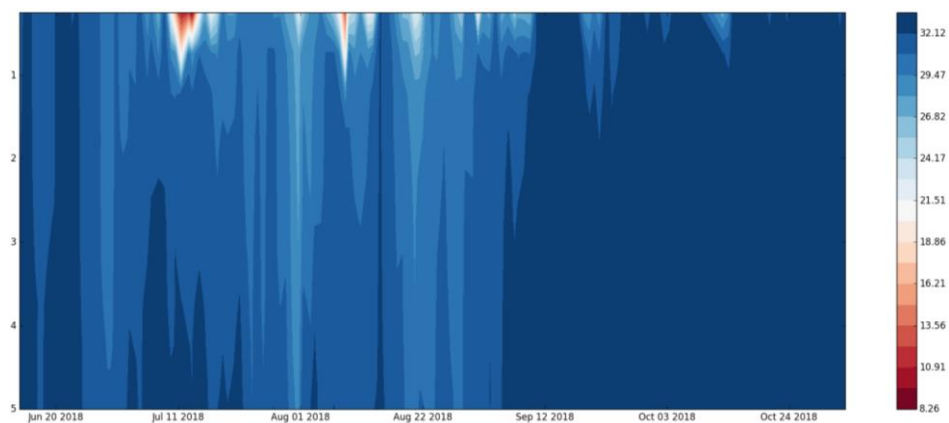
Figur 14. Salinitet på 37 og 207 cm dyp ved hamsterringen i merd 3. Saliniteten ved 37cm er i perioder noe lavere som følge av ferskvannstilførsel, men forskjellen er veldig variabel.

Resultater CTD-sonde

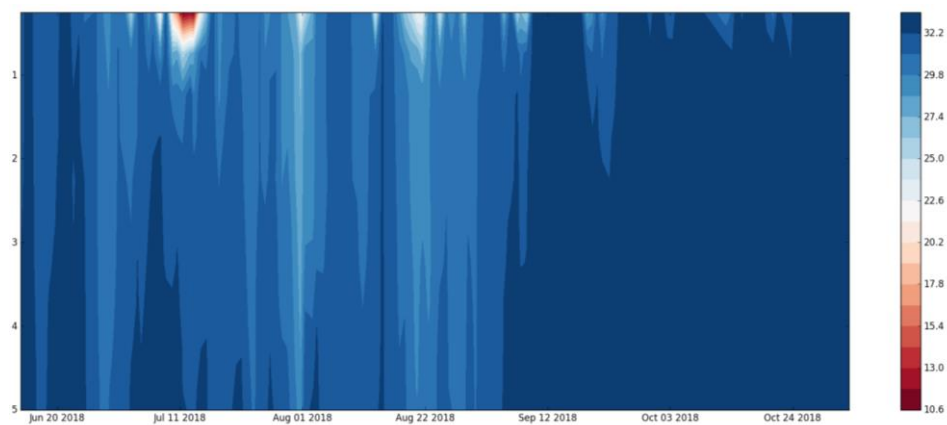
Siden målingene med CTD-sonde foregår på fire stasjoner hver dag er det 548 profiler for perioden 13/6-2/11, og kun et utvalg vil bli vist her for å illustrere utviklingen gjennom perioden. Sonde-trekkene bekrefter at brakkvannslaget var mye tydeligere i periodene som man ser fra CTD-SRDL målingene. I tillegg ser man at det også er et grunnere brakkvannslag i perioder utenom dette. En sammenstilling av alle CTD profiler ved hver stasjon er vist i såkalte hovmøller-diagram for hhv. CTD-stasjon i senter av forsøksmerd (Figur 15), merdkant av forsøksmerd (Figur 16) og referansemerd (Figur 17). Disse figurene viser tydelig at saltholdigheten øverst i forsøksmerden er periodevis tydelig påvirket av ferskvannstilførselen, men også at påvirkningen varierer mye og ofte til tider er veldig grunn. Videre ser man også at det er små variasjoner fra senter til merdkant i selve forsøksmerden. For å gå videre inn i detaljene i utviklingen av brakkvannslaget er det også nyttig å se på enkeltprofiler.

Første CTD-profil inne i forsøksmerden som viser verdier av saltholdighet under 29 PSU er fra 27/6, og er vist for CTD-stasjon ved merdkant i Figur 18. Her ser man altså et ferskere lag i overflaten, men forskjellen er liten (se skala på x-aksen). Ellers er det en del fluktuasjon i saltholdighet nær overflaten, men ikke mulig å se noe klart signal på et ferskere lag før den 5/7, hvor man ser et ferskere lag ned til nesten 1m (Figur 19 merdkant; Figur 20 senter).

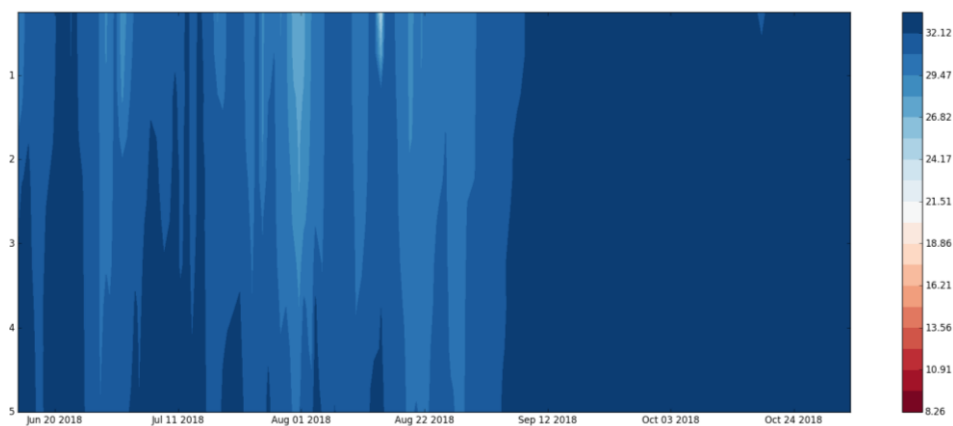
Som illustrert i Figur 11 så er det en periode med tydelig ferskere lag i overflaten fra 7/7-14/7, og dette ser man også tydelig fra CTD-profilene, illustrert ved profilene inne i forsøksmerden i Figur 21 og 22. Ifølge CTD-SDRL måleseriene vist i Figur 11, er det et minimum i saltholdighet på 0,5m den 11—12/7, og dette kan bekreftes i fra sonde-trekket 11/7 vist i (merdkant), hvor saltholdigheten er under 10 PSU i øverste måling. Fra CTD-profilene 14/7 (Figur 24) ser man også at det fortsatt er et mye ferskere lag nær overflaten, men at dette hovedsakelig er over 0,5m og derfor ikke vises så godt i CTD-SRDL målingene vist i Figur 11. Ifølge CTD-profilene holder dette brakkvannslaget seg tydelig, men svekkes litt frem til og med 20/7, hvor man fortsatt finner saltholdighet under 23 PSU øverst i forsøksmerden (Figur 25). Etter dette er det en periode hvor saltholdigheten fluktuerer, med saltholdighet over 30 PSU på ca. 12cm (øverste måling) 21/7, mens man også finner profiler som viser et meget tynt ferskere lag i overflaten (22/7: Figur 26). Når laget blir så tynt som vist i Figur 26 så kan det være vanskelig å se også i CTD-profilene, og man er avhengig av at sonden har blitt trukket meget sakte gjennom det øverste laget. Videre fra 22/7 ser man samme trend, hvor man enkelte dager ikke ser noe brakkvannslag i det hele tatt, mens man andre dager ser antydning til et meget tynt ferskere lag ved overflaten. Fra 26/7 ser man igjen et tykkere lag etablere seg (Figur 27). Det virker som at dette laget holder seg noenlunde stabilt frem til 1/8, men med minimum saltholdighet på 20-25 PSU, så det er ikke veldig lave verdier. 1/8 ser man igjen en midlertidig forsterkning av laget (Figur 28), men så er det igjen nesten helt borte noen dager frem til 5/8, hvor det igjen bygges opp, og den andre perioden med spesielt tydelig lag vist i 0 begynner gradvis. Minimum saltholdighet inntreffer 8/8, og man ser et tydelig ferskere lag ned til ca. 1.3m (Figur 29). Laget svekkes så noe, men holder seg tydelig frem til 14/8. Fra 14/8 t.o.m. 16/8 ser man igjen nesten ikke noe til et brakkvannslag, før det igjen synes svakt 17/8 med salinitet under 28PSU i overflaten. Fra 17/8-23/8 styrkes det noe igjen og man ser igjen saltholdigheter rundt 20PSU i overflaten. Utover perioden er det brakkvannslaget generelt svakere, men man ser en påvirkning med saltholdighet ned under 29PSU i korte perioder fra slutten av august til midten av oktober (Figur 15-Figur 16).



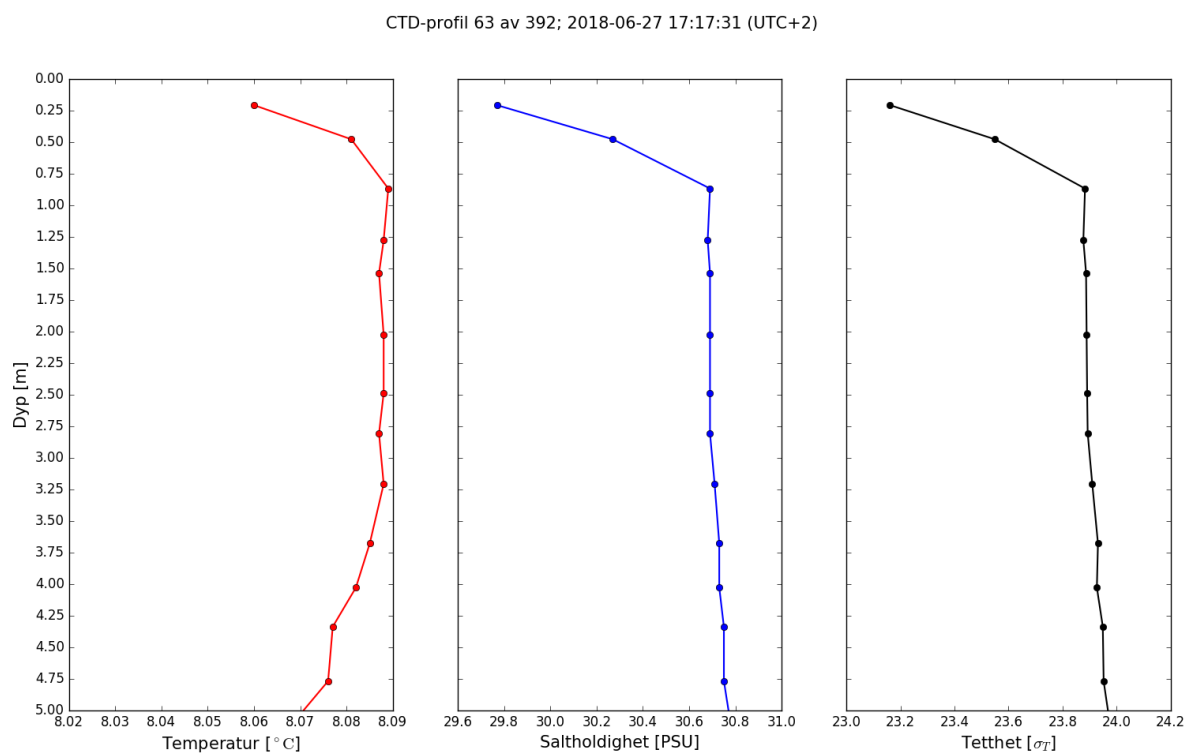
Figur 15. Hovmøller-plot av CTD-profiler ved senter av M3. y-akse er dyp og farge indikerer saltholdighet i ppu.



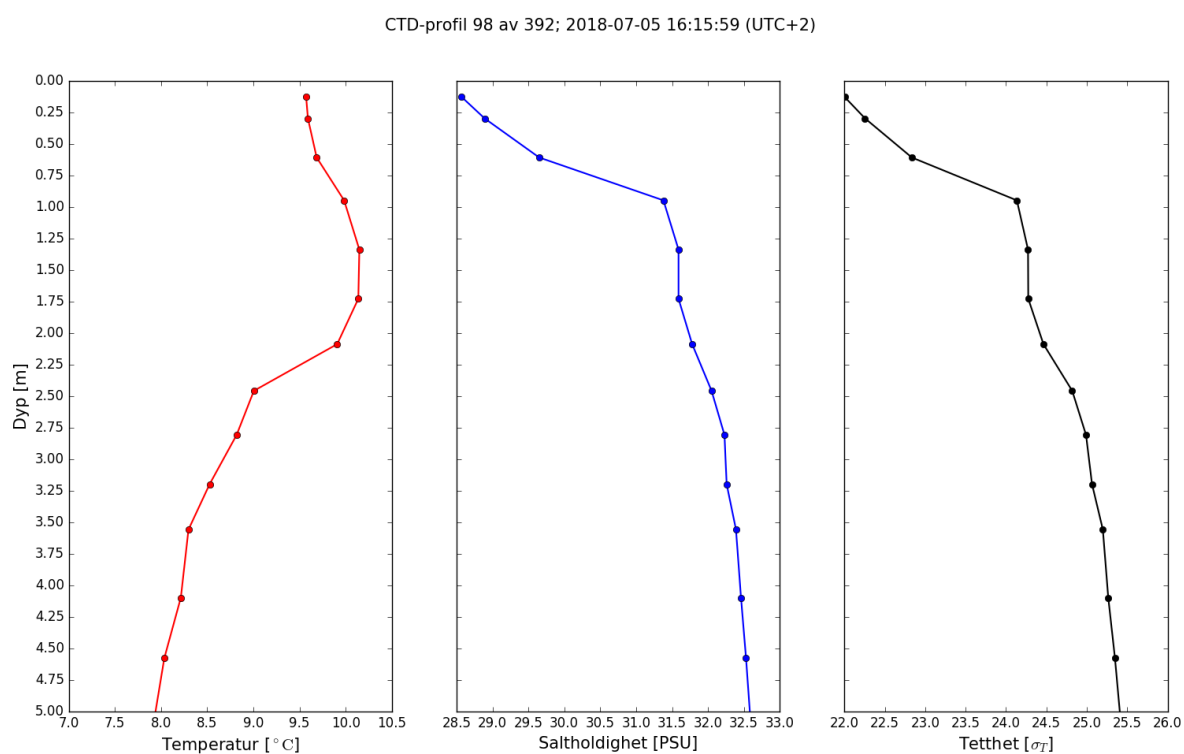
Figur 16. Hovmøller-plot av CTD-profiler ved merdkant av M3.



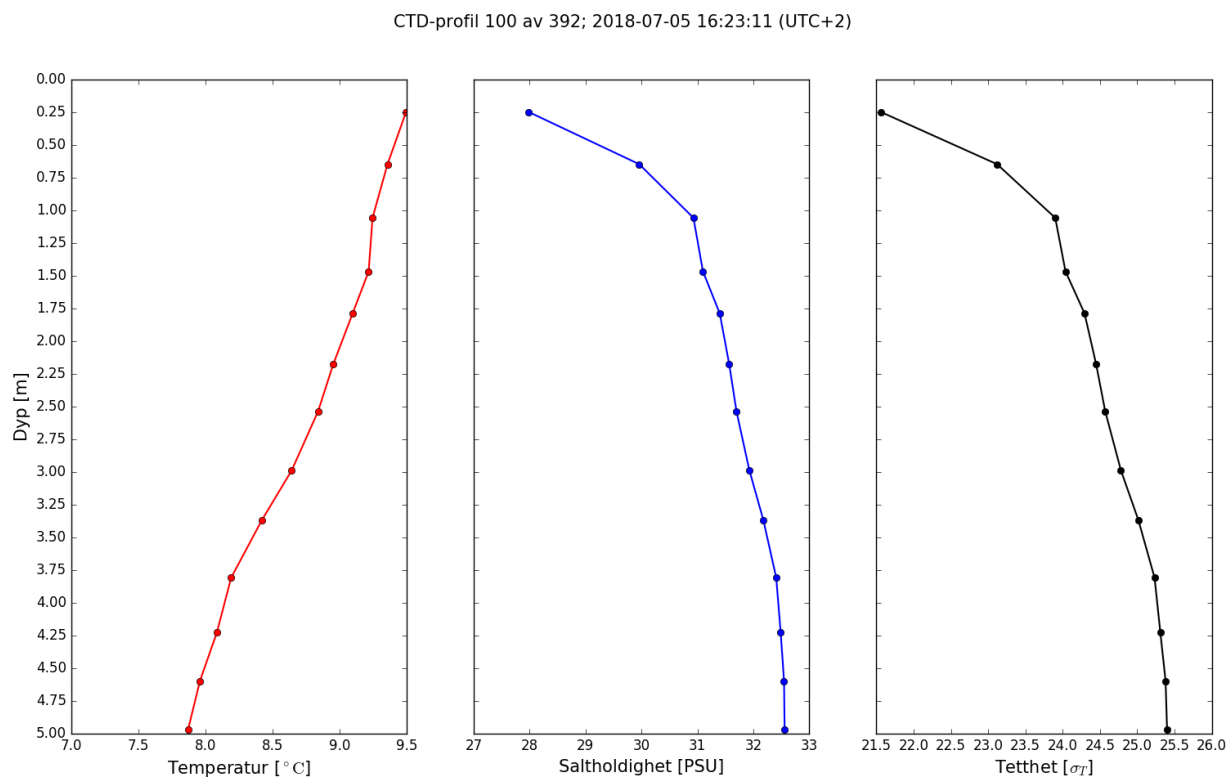
Figur 17. Hovmøller-plot av CTD-profiler ved referansemerd.



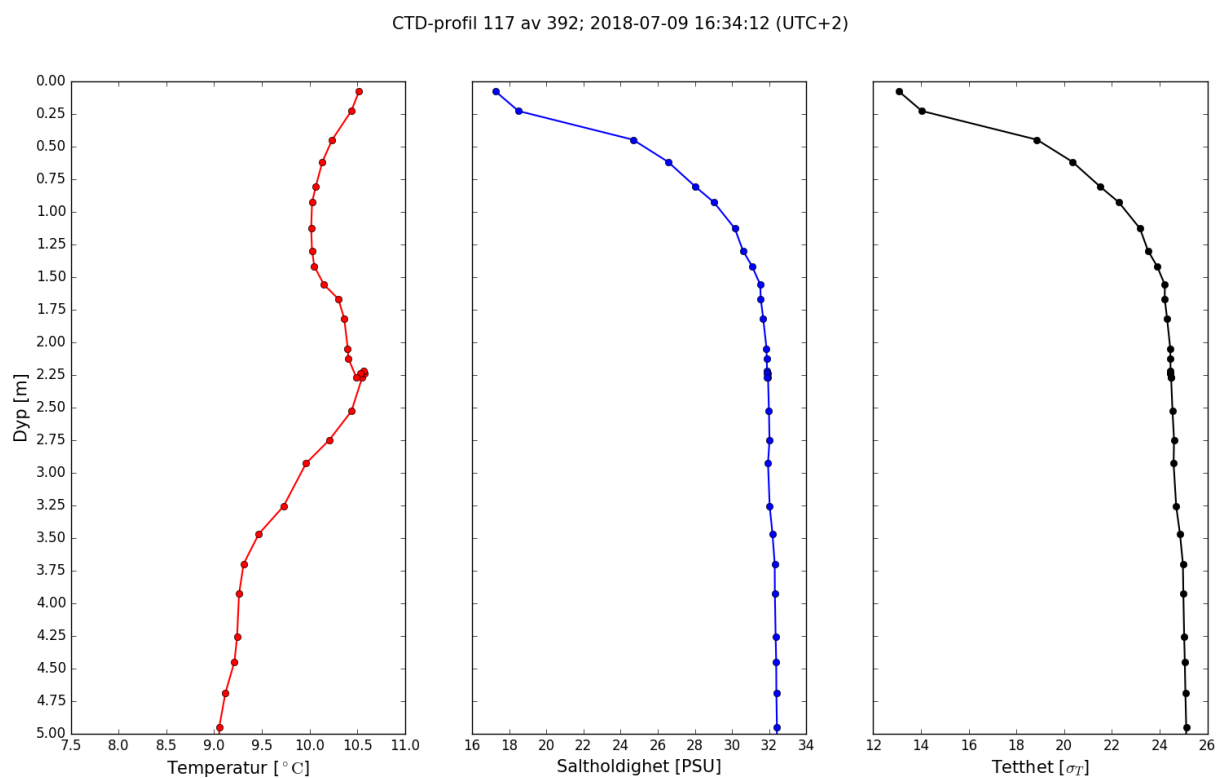
Figur 18. CTD-profil fra merdkant ved forsøksmerd (M3) 27/6-18. Punkter viser faktiske målepunkt i vertikalen.



Figur 19. CTD-profil fra merdkant ved forsøksmerd (M3) 5/7-18.

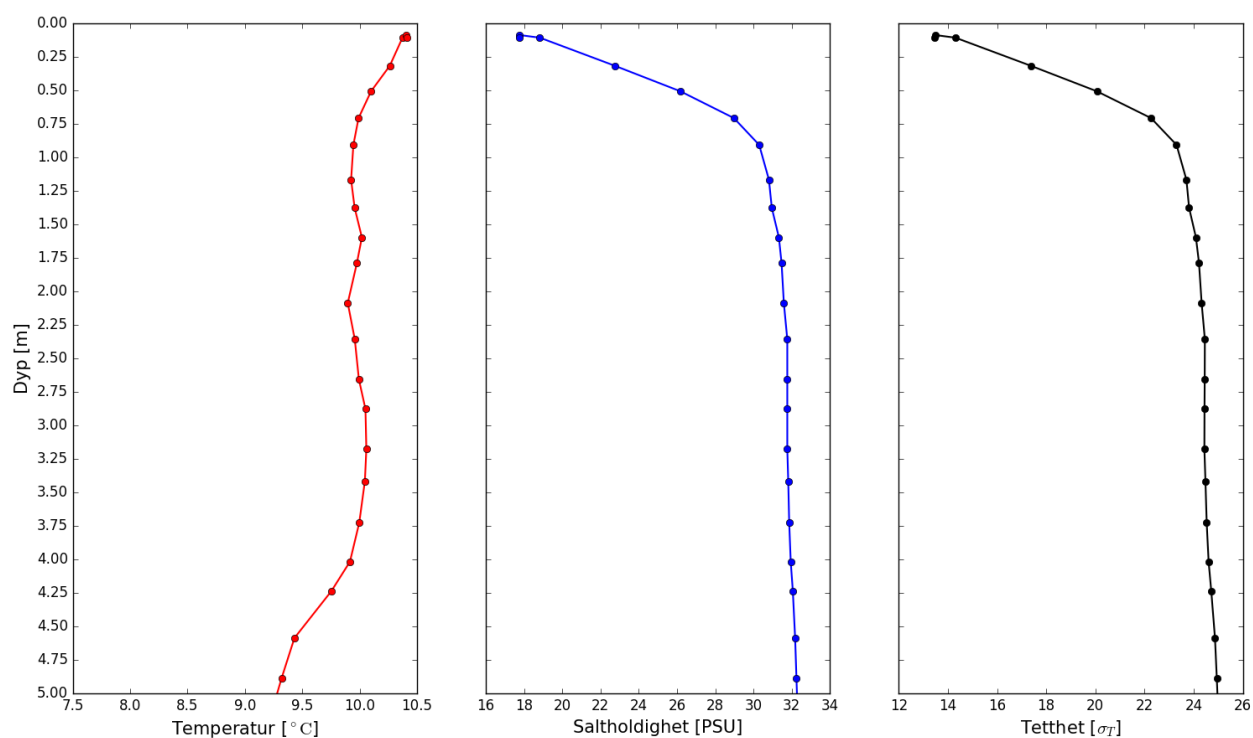


Figur 20. CTD-profil fra senter i forsøksmerd (M3) 5/7-18.



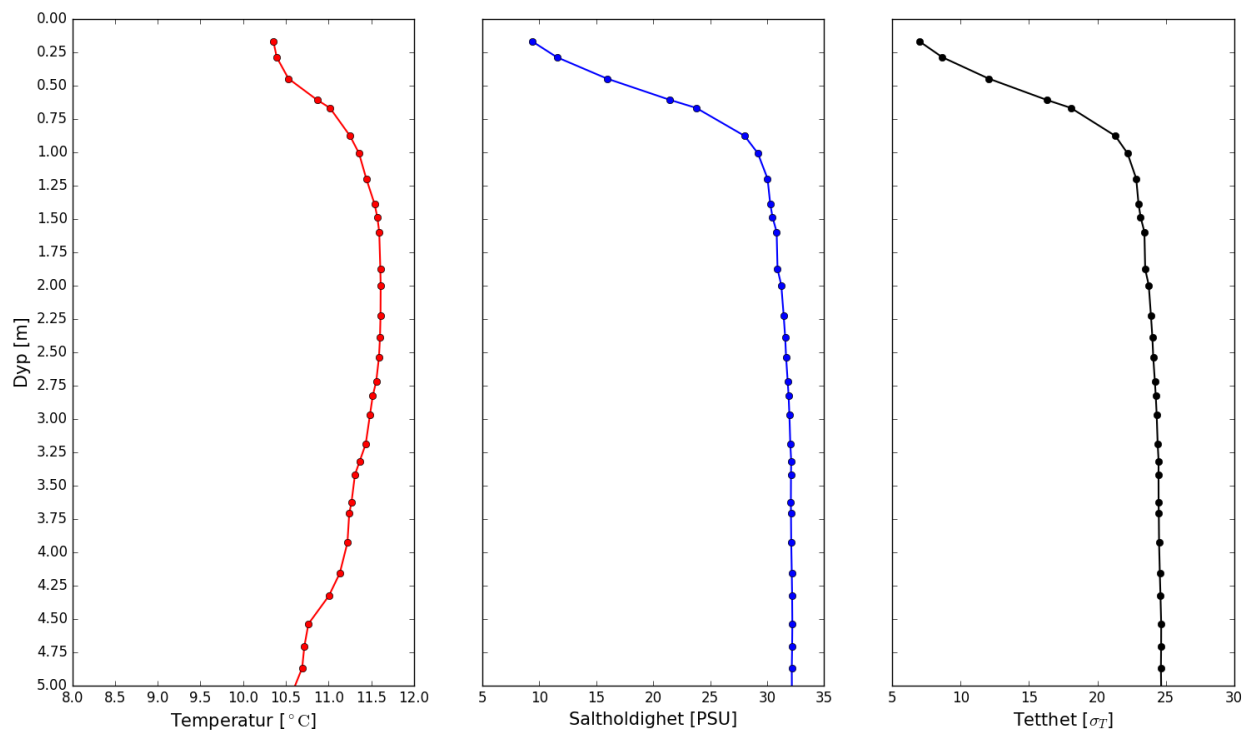
Figur 21. CTD-profil fra merdkant ved forsøksmerd (M3) 9/7-18.

CTD-profil 118 av 392; 2018-07-09 16:38:42 (UTC+2)



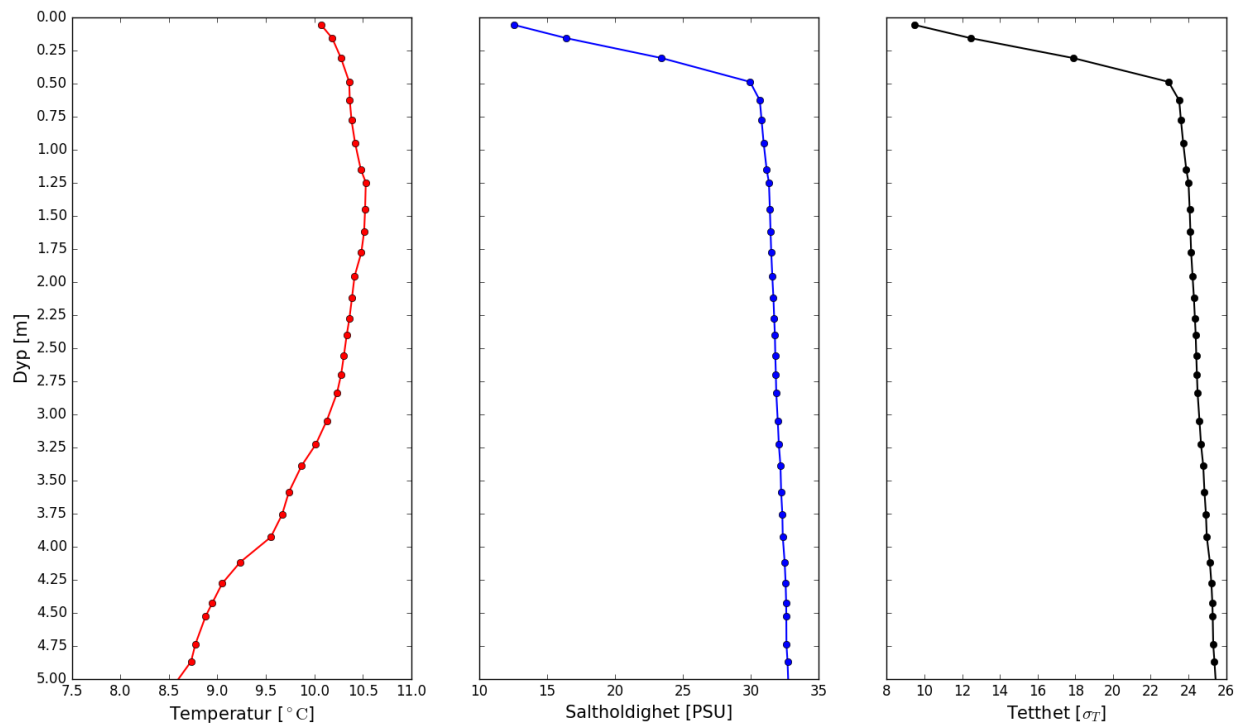
Figur 22. CTD-profil fra senter i forsøksmerd (M3) 9/7-18.

CTD-profil 125 av 392; 2018-07-11 10:40:29 (UTC+2)



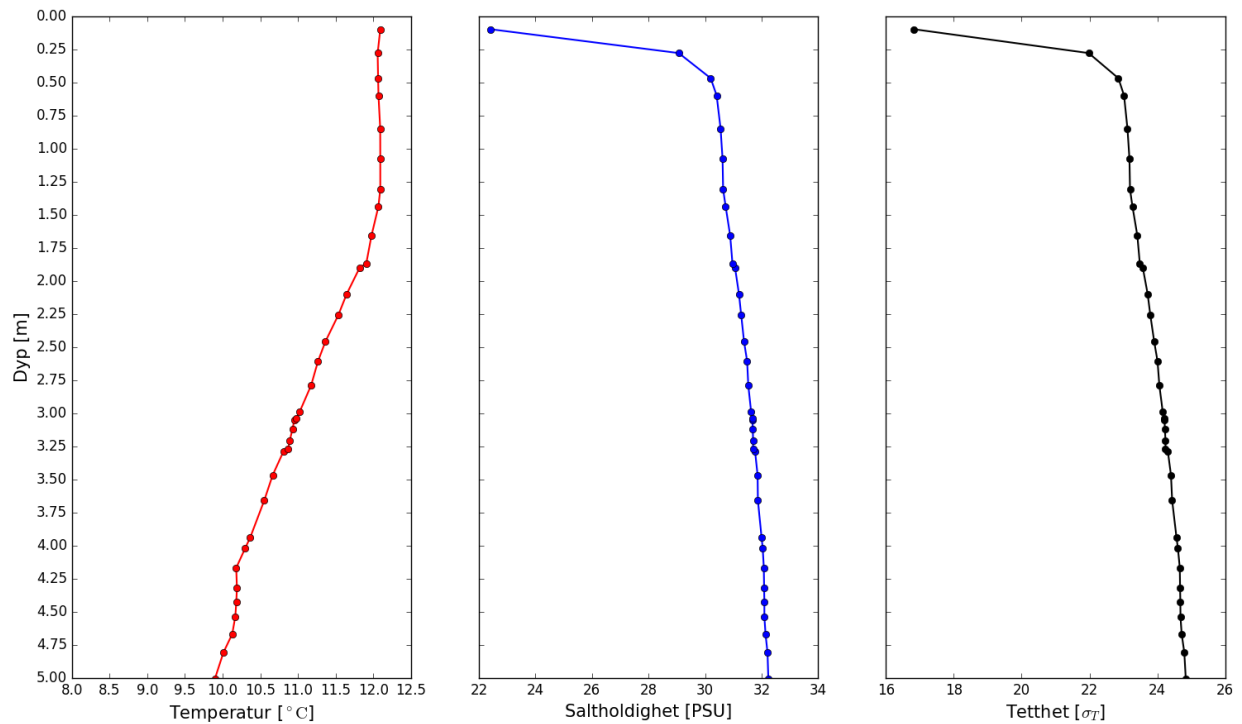
Figur 23. CTD-profil fra merdkant ved forsøksmerd (M3) 11/7-18

CTD-profil 139 av 392; 2018-07-14 14:26:14 (UTC+2)



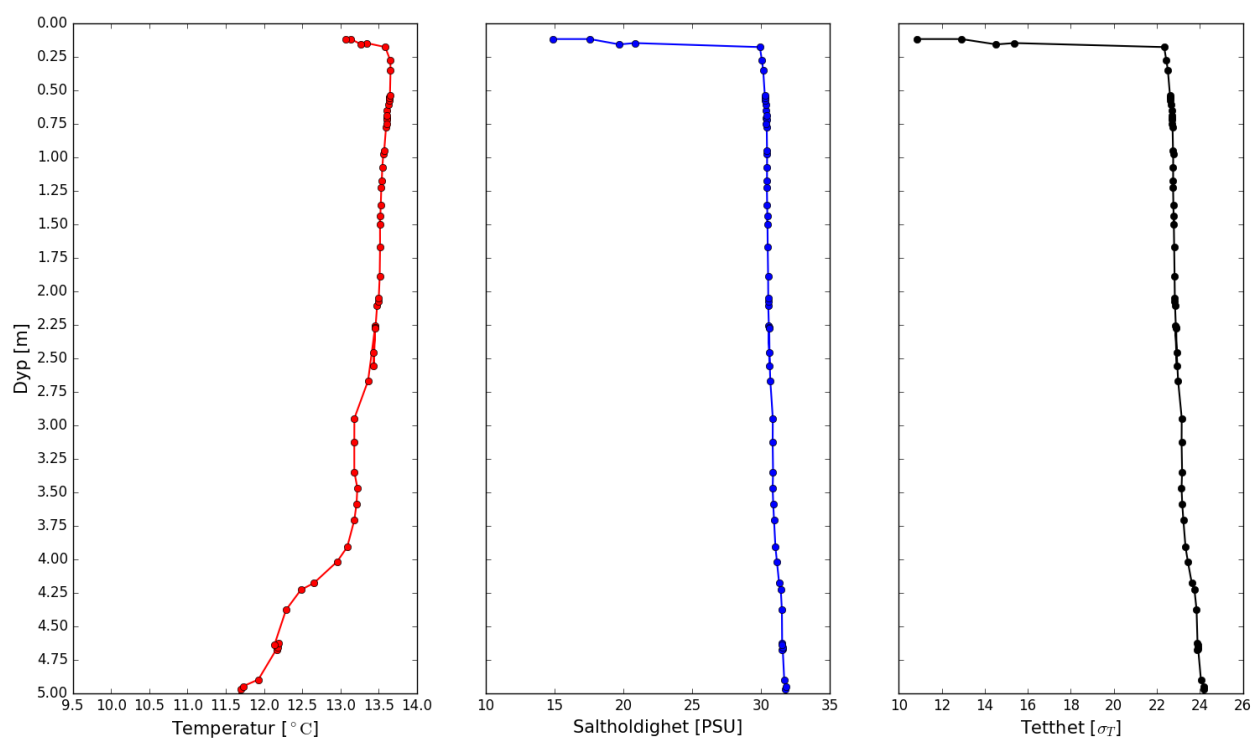
Figur 24. CTD-profil fra senter i forsøksmerd (M3) 14/7-18.

CTD-profil 174 av 392; 2018-07-20 16:27:55 (UTC+2)



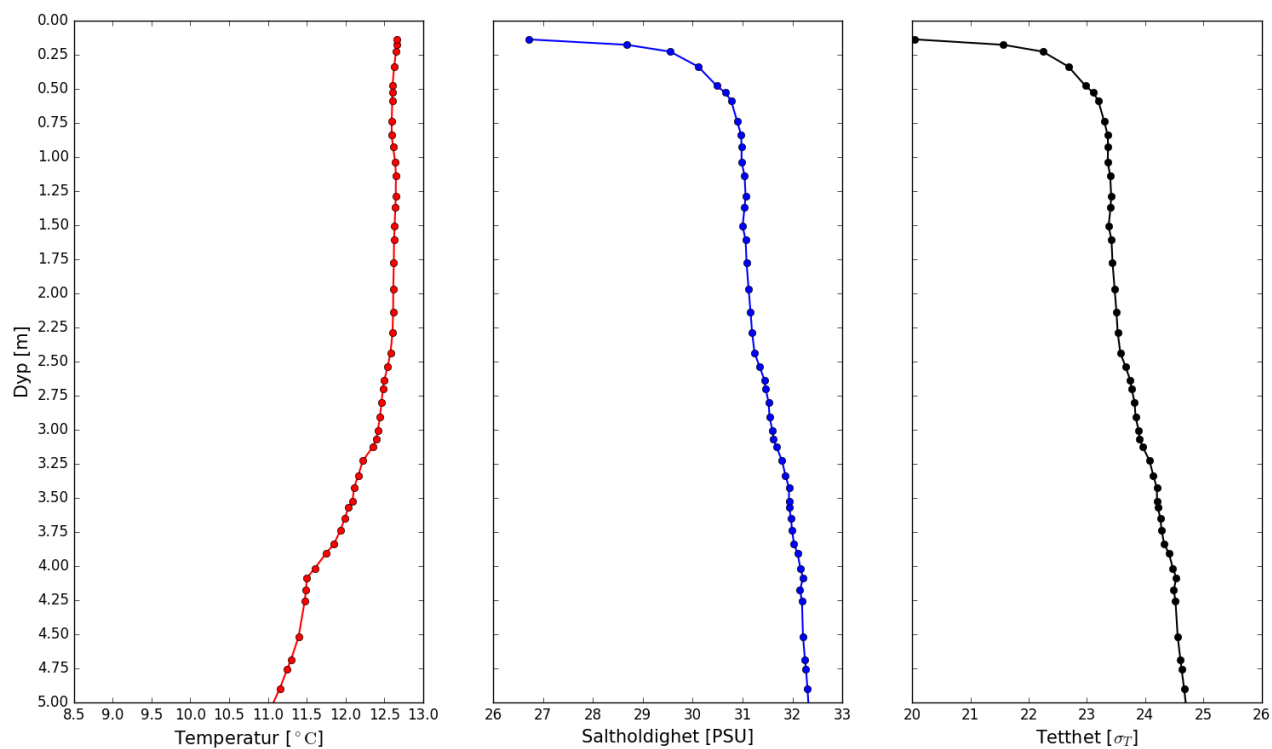
Figur 25. CTD-profil fra senter i forsøksmerd (M3) 20/7-18.

CTD-profil 189 av 392; 2018-07-22 14:32:15 (UTC+2)

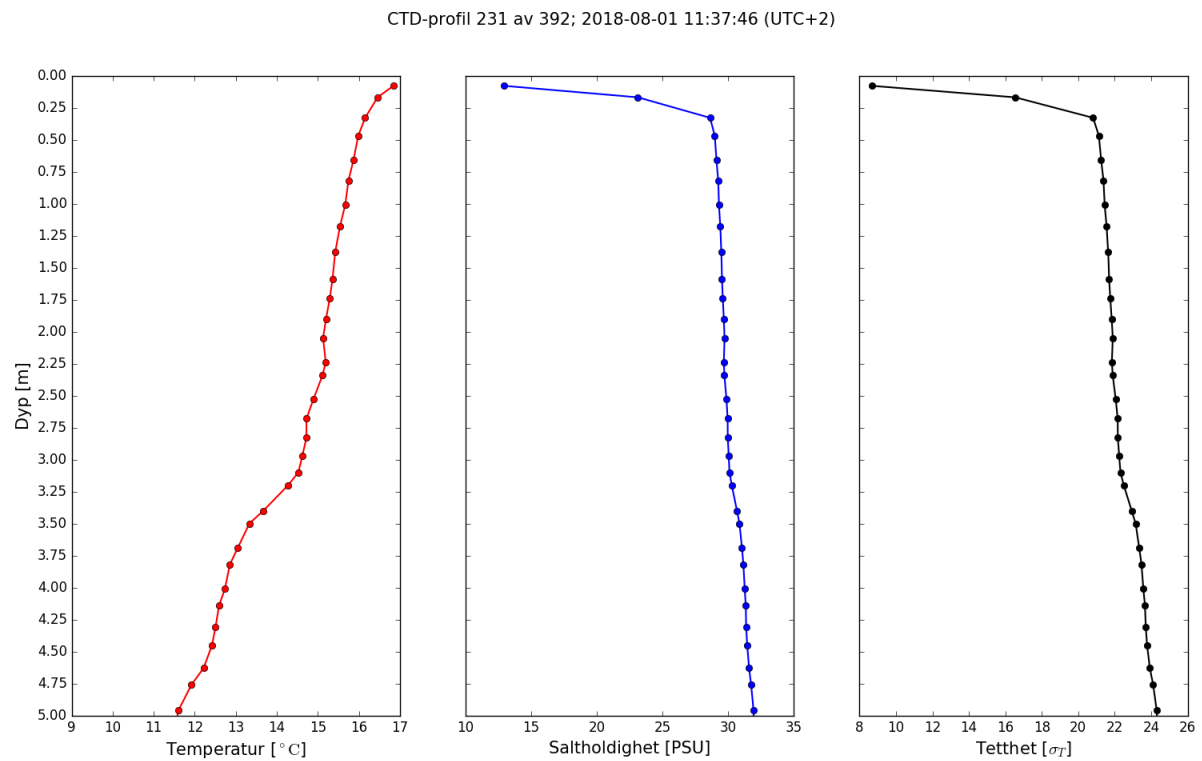


Figur 26. CTD-profil fra senter i forsøksmerd (M3) 22/7-18.

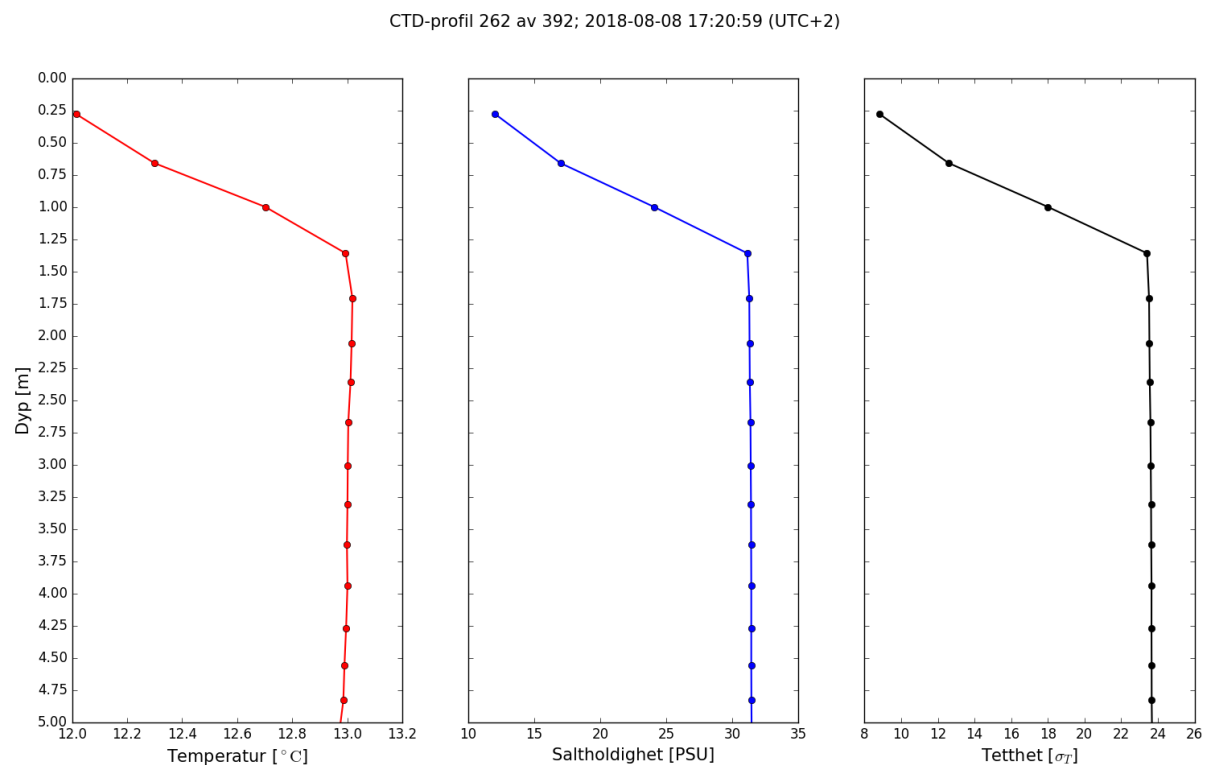
CTD-profil 206 av 392; 2018-07-26 09:59:57 (UTC+2)



Figur 27. CTD-profil fra merdkant i forsøksmerd (M3) 26/7-18.



Figur 28. CTD-profil fra senter i forsøksmerd (M3) 01/08-18.



Figur 29. CTD-profil fra senter i forsøksmerd (M3) 8/8-18.

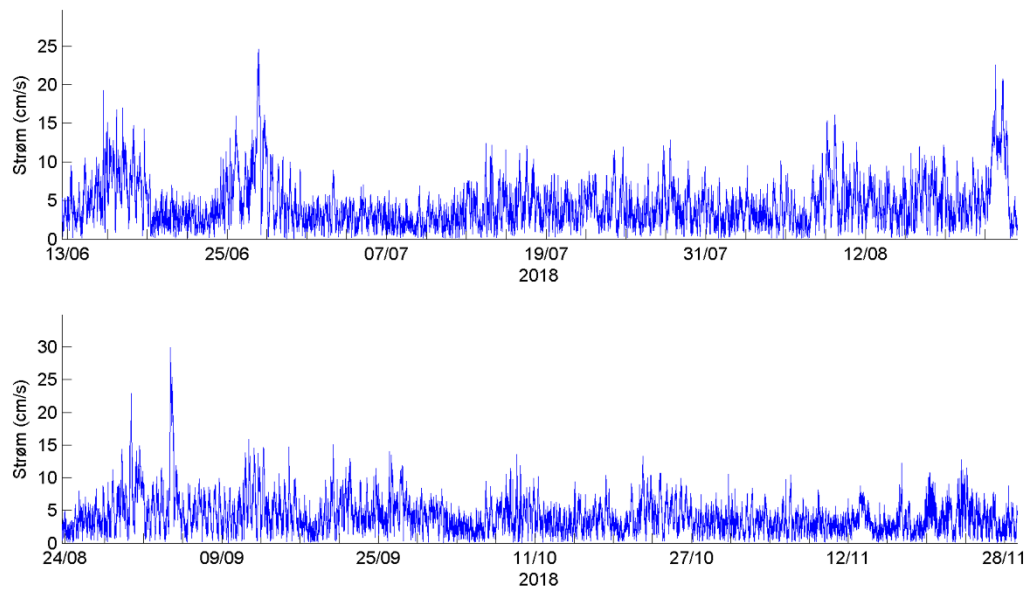
Strømmåling

Samtidig som en kontinuerlig tilførsel av ferskvann i forsøksmerden danner et ferskere brakkvannslag i overflaten, vil strømmen skape turbulens og blande inn mer saltholdig vann nedenfra. Siden det er ventet at strømmen vil være en hovedfaktor for å forhindre etableringen av et stabilt brakkvannslag er det gjennomført målinger av strøm ved lokaliteten. Her presenteres resultater fra strømmålingene.

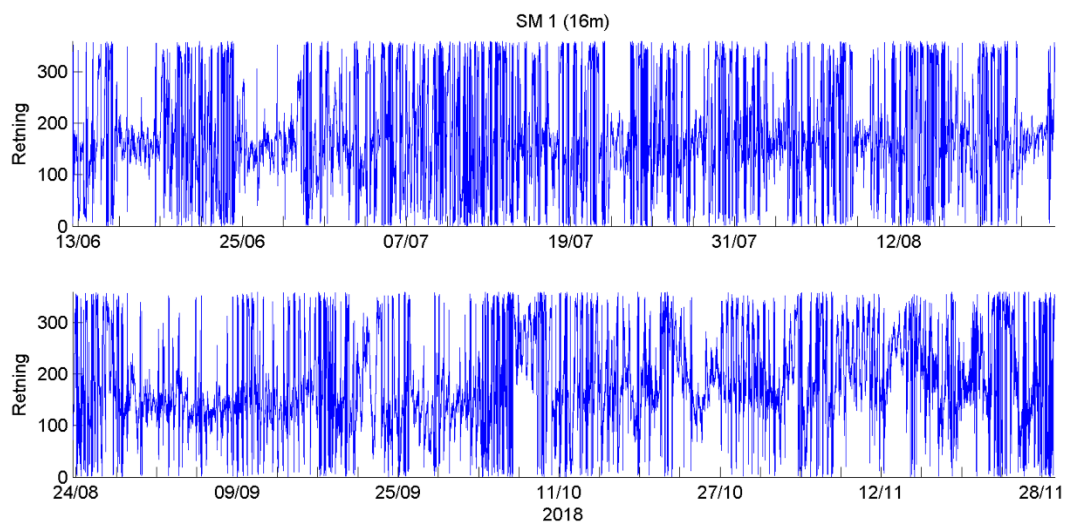
Resultater fra strømmålinger

Tabell 3. Statistikk fra målte tidsserier av strøm fra 16m strømmåler. Perioden er delt i to.

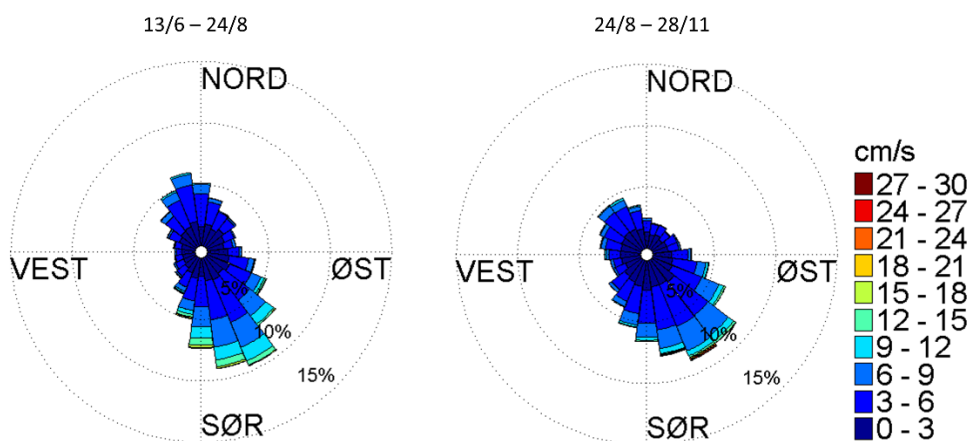
13/6 – 24/8			24/8 – 28/11		
	Strøm (cm/s)	Temperatur (°C)		Strøm (cm/s)	Temperatur (°C)
Max	24.6	11.4	Max	30	11.2
Min	0	6	Min	0	6.8
Gj.snitt	4.4	7.9	Gj.snitt	4.1	9.1
% av målinger > 10 cm/s	5.8		% av målinger > 10 cm/s	2.9	
% av målinger < 10 > 3 cm/s	56.8		% av målinger < 10 > 3 cm/s	57	
% av målinger < 3 > 1 cm/s	32		% av målinger < 3 > 1 cm/s	34.1	
% av målinger < 1 cm/s	5.3		% av målinger < 1 cm/s	5.9	
95-prosentil (95 % av målingene er lavere enn denne verdien)	10.6		95-prosentil (95 % av målingene er lavere enn denne verdien)	8.8	
Residual strøm	1.5		Residual strøm	1.4	
Residual retning	151		Residual retning	158	
Varians	9.4	1.7	Varians	7.4	1.6
Standardavvik	3.1	1.3	Standardavvik	2.7	1.3
Stabilitet (Neumanns parameter)	0.34		Stabilitet (Neumanns parameter)	0.34	



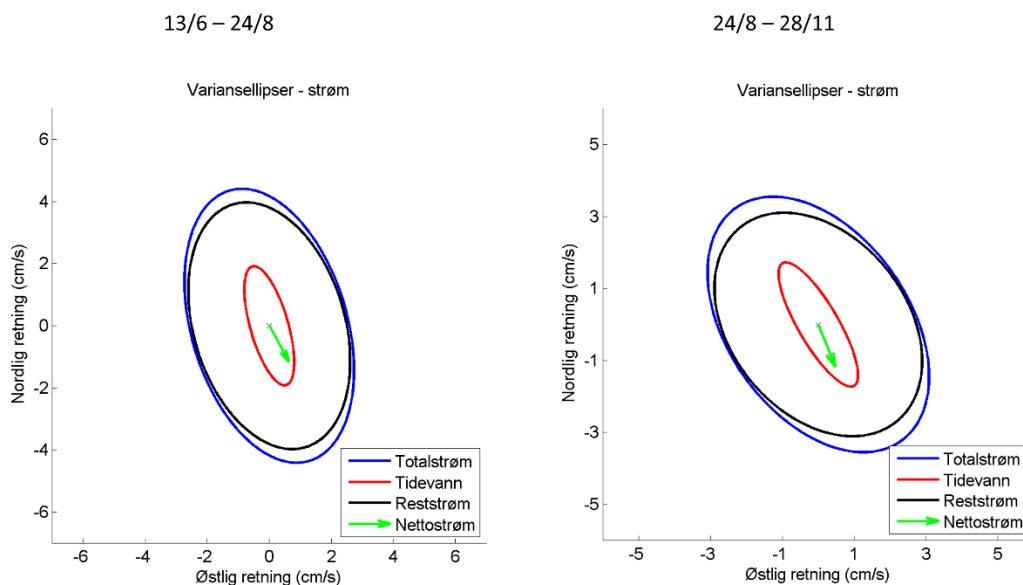
Figur 30. Tidsserie av strømfart i nordøstre del av lokalitet Uløybukt, på 16 m dyp.



Figur 31. Tidsserie av strømretning i nordøstre del av lokalitet Uløybukt, på 16 m dyp.



Figur 32. Strømrose som viser retningsfordeling og strømstyrkefordeling ved 16 m dyp. Totallengden på sektorene indikerer andel målinger (%) i respektive retninger i løpet av måleperioden. Lengden på hvert fargesegment i hver sektor bestemmer videre den relative andelen av målinger med korresponderende strømstyrke (se fargeskala) innenfor hver enkelt sektor. For eksempel, jo mer lyseblå farge i en sektor, desto hyppigere strøm med styrke 9 – 12 cm/s i den retningen. Retningsintervallene er 15 grader.



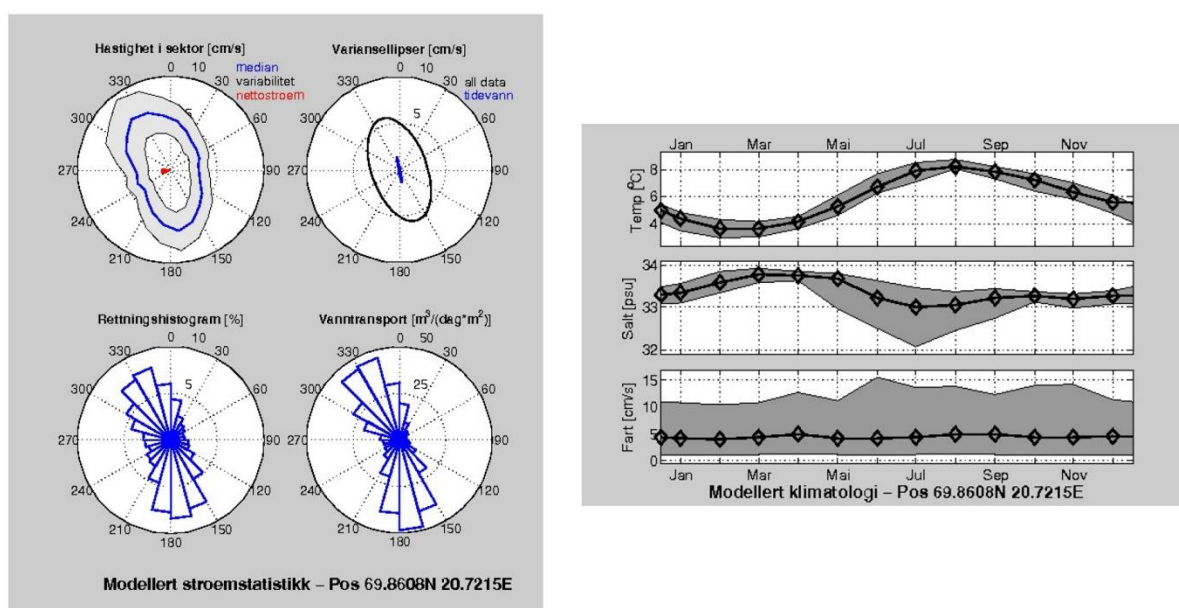
Figur 33. Middelstrømvektor (nettostrøm, grønn pil) og variansellipser for tidevannsstrøm (rød), reststrøm (sort) og totalstrøm (blå). Variansellipsene tilsvarende ett standardavvik, og flattrykkte ellipser illustrerer markerte hovedstrømretninger.

Modellert strøm

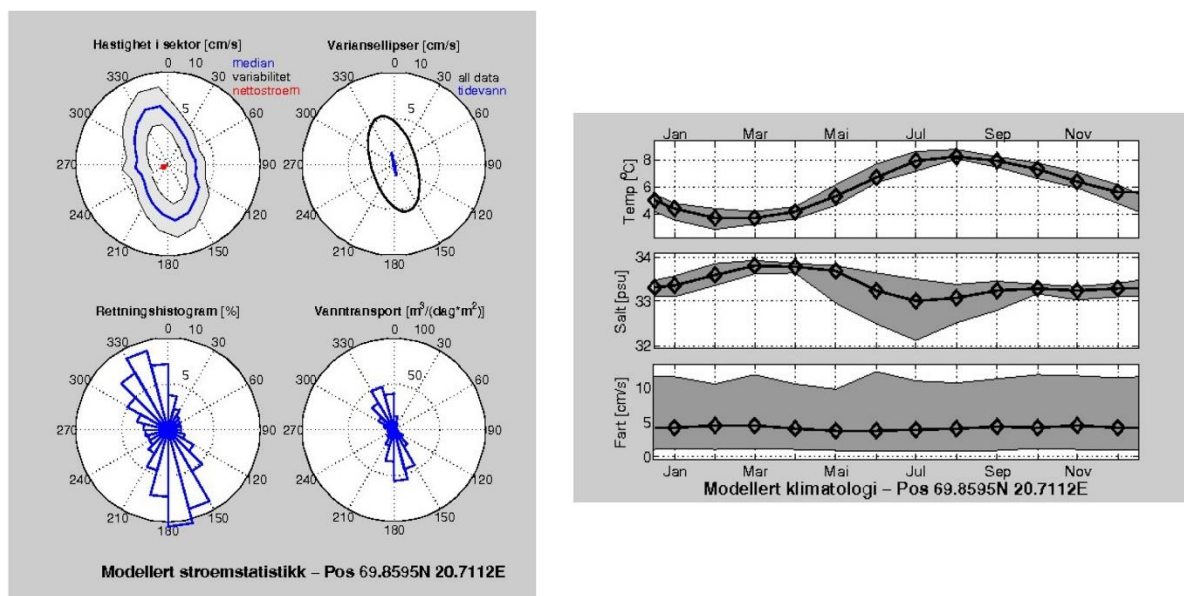
Siden strømmålingen i dette tilfellet kun dekker et punkt i området, som ligger i ytterkant av anlegget, har vi i tillegg brukt modellert strøm fra en havmodell til å vurdere forskjellen mellom strøm ved målepunktet og ved forsøksmerden. Modellert strøm dekker ikke samme periode som målingene, men likevel kan statistikk og gjennomsnittsverdier fra modellen gi en pekepinn på strømforholdene på lokaliteten. Modelldata er hentet fra en kjøring for hele kysten av Troms og finnes åpent tilgjengelig på www.havstraum.no.

Sammenligning modell og målinger

Modellresultater for strøm ved NØ-forankringsbøye (nærmeste gitterpunkt i modellen) er vist i Figur 34. Som man kan se fra Figur 34 sammenlignet med Figur 30-Figur 33, så er strømrretning og styrke ganske lik i modell og målinger, med dominerende retninger nord-nordvest og sør-sørøst. Modelldata viser imidlertid en noe mer jevn fordeling i nettostrøm mellom disse to hovedretningene, mens målingene viser mer dominerende strøm mot sør-sørøst og dermed også en nettotransport i denne retningen. En direkte sammenligning mellom modell og målinger er ikke mulig her siden de dekker ulike perioder (modellen er kjørt for 2010 og 2011, og statistikken fra modell gjelder hele året), men ved sammenligning av strømstatistikk gir likevel modellen en god pekepinn på strømstyrke og retning. Fra målepunktet ved NØ-forankringsbøye til forsøksmerd (M3) er det ifølge modellen relativt små forskjeller i strømmen (Figur 34 vs. Figur 35), men man ser for eksempel at percentilene ligger litt tettere og at det dermed er mindre fluktuasjoner i strømmen nærmere land. Gjennomsnittshastigheten på 15m ved forsøksmerden er i underkant av 5 cm/s og 95% percentilen er rett i overkant av 10 cm/s.



Figur 34. Strømstatistikk fra modell, nærmeste gitterpunkt til strømmåler, 15m dyp.



Figur 35. Strømstatistikk fra modell, nærmeste gitterpunkt til Forsøksmerd (Merd 3), 15m dyp.

Sammenheng mellom brakkvannslag, vanntilførsel og strøm

I teorien vil sterkere strøm føre til økt blanding nedenfra og et tynnere og mindre tydelig brakkvannslag i forsøksmerden. Det er imidlertid vanskelig å se en klar sammenheng mellom brakkvannslaget og strøm alene på nåværende tidspunkt. For eksempel er en periode med noe sterkere strøm inne i en av periodene med stabilt brakkvannslag (5/8 – 14/8), og man kan ikke se noen tydelig svekking av laget i denne perioden.

Endringer etter første måleperiode

Siden det viste seg at det ofte var et ferskere brakkvannslag over 0,5m, som dermed ikke kunne sees tydelig i CTD-SRDL målingene, ble det besluttet å endre konfigurasjon på kjedene inne i forsøksmerden. Det øverste målepunktet ble flyttet så nærme overflaten som mulig (ca. 14cm), og avstanden mellom de neste målepunktene ble kortet ned mest mulig. En oversikt over nye måledyp sammenlignet med gamle kan sees i tabell Tabell 4.

Serienr.	Kjede nr.	Dyp (m)	Nytt Dyp (m)
12857	1	0,5	0,14
12887	1	1	0,37
12888	1	1,5	0,60
12882	1	2,0	0,84
12885	1	2,5	1,07
12881	1	3,5	2,07
12886	1	5	3,57
12883	2	0,5	0,1
12856	2	1	0,6
13069	2	2,5	2,1
13067	3	1,0	0,1
13071	3	2,5	1,6
12884	3	3,5	2,6

Tabell 4. Samme som Tabell 1, men med ekstra kolonne for nye måledyp fra 23/8-18.

Oppsummerende vurderinger og konklusjoner på miljø

Fra de fastmonterte CTD-SRDL kjedene så man at saltholdigheten på 0,5m i forsøksmerden fluktuerte og at ferskvannstilførsel ga utslag, men med store fluktuasjoner. Det var særlig to perioder som pekte seg ut med godt etablerte brakkvannslag: 7/7 - 14/7 og 7/8 - 11/8.

De manuelle sondetrekke med CTD ga bare et øyeblikksbilde hver dag, men bekreftet trenden med store fluktuasjoner i saltholdighet. Siden sondetrekke ga høyere oppløsning i overflaten, så man at periodene med veletablert brakkvannslag var lengre enn først indikert av de fastmonterte CTD-SRDL kjedene, og vi kunne si at det var stabile brakkvannslag i periodene 7/7 – 20/7, 5/8 -14/8 og 17/8-23/8. Ellers var det store fluktuasjoner, men ofte så man et tynt overflatelag som var helt i grenseland av hva vi fikk oppløst med instrumentene.

Basert på erfaringene frem til medio august ble det besluttet å heve CTD-SRDL kjedene slik at man fra 23/8 fikk måleserier høyere oppe i vannsøylen. Dette gjorde det enklere å identifisere perioder med høyere/lavere saltholdighet.

Det syntes ikke å være noen entydig sammenheng i tid mellom strømstyrke og brakkvannslaget, men det er vanskelig å analysere dette siden det oppstod lange perioder uten et veletablert lag med lav saltholdighet i overflaten og flere avbrudd i vanntilførsel. Vanntilførselen var ustabil grunnet diverse oppstartsproblemer med pumper og uforutsette strømstans.

Alt i alt fant man at det var utfordringer knyttet til det å etablere et permanent, stabilt brakkvannslag, og en av hovedutfordringene var tilstrekkelig og stabil tilførsel av ferskvann. En utfordring med målingene har vært at brakkvannslaget ofte er veldig tynt, og med flytting av målekjedene (jmf. Tabell 1 og Tabell 4) fikk vi måleserier nærmere overflaten. Dessverre ble det i den andre måleperioden ikke etablert like dype brakkvannslag og det var flere avbrudd i ferskvannstilførsel blant annet som følge av avlusning.

Effekt på fastsittende- og planktoniske stadier av lakselus

Forekomst av luselarver fra vannprøver

Prøvetaking av plankton ved pumping for registrering av forekomsten av luselarver ble gjennomført fire ganger med ca. 1 mnd. mellomrom (25. juli, 29. august, 1. oktober og 25. oktober) fra forsøksmerdene (3 og 4), referansemerdene (6 og 7) og utenfor anlegget (Bilde 3).

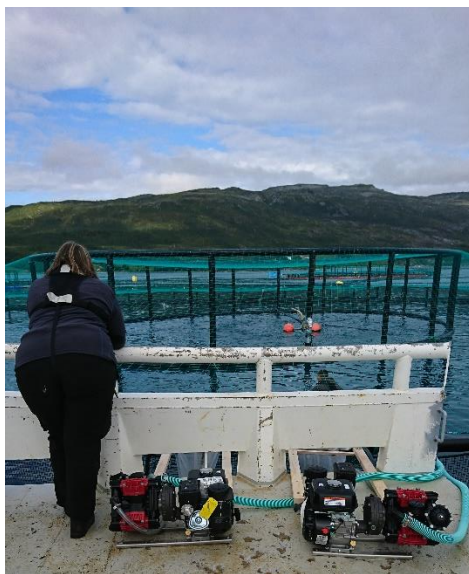


Bilde 3. Pumping av vannprøver og filtrering for oppsamling av plankton.

Foringen i forsøksmerdene ble stoppet dagen før prøvetaking for å redusere mengden med detritus i prøvene mest mulig.

I forkant av hver prøvetaking ble vær og vindforhold vurdert og CTD data ble sjekket for å bekrefte ferskvannspåvirkning i overflaten.

Prøvetakingen foregikk med to pumper (Kohler Command PRO CH270) kalibrert til en pumpekapasitet på 2 m³ sjøvann per 30 min. Metoden var basert på erfaringer og anbefalinger fra Nilsen (2016). Ved prøvetaking ble sjøvann filtrert gjennom et 150 µm plankton-nett montert på ramme (Bilde 4). Cod-enden i planktonnettet ble montert på hvert nett og plassert i en 25 L bøtte på merdkanten.



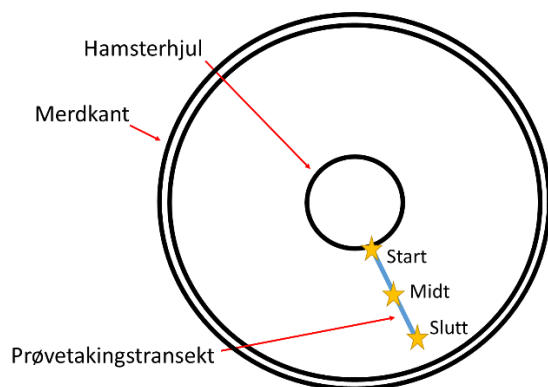
Bilde 4. Planktonsil (t.v.) og to pumper i drift (t.h.) på arbeidsbåt for pumping av vannprøver gjennom planktonsil.

Prøvetaking

Det ble tatt prøver fra 3 prøvetakingsdyp på hver stasjon:

1. Ferskvannslaget, øverste 0-1 m (referert til som «1 m»)
2. Rett under haloklinen, ca. 2,0 – 3,0 m (referert til som «3 m»)
3. Dyp prøve, 5-6 m (referert til som «5 m»)

Hver prøvetaking skjedde fra 1 meters vannkolonne langs et 10 m horisontal transekt i løpet av 30 min ved at slangen til hver pumpe ble heist opp og ned (± 1 m) mens en forflyttet innløpet til pumpe-slangen horisontalt (Bilde 5).



Bilde 5. Prøvetakingsområde i merd (t.v.) og gjennomføring av prøvetaking (pumping) fra båt (t.h.).

I starten av hver prøvetaking sto pumpene og gikk en stund for å skifte ut alt vann som kunne være igjen i slangene og pumpene. Prøvetakingen foregikk ved at slangene ble ført ut til hamsterhjulet. Etter 10 minutter ble slangene flyttet nærmere merdkanten til ca. midt mellom hamsterhjulet og merdkanten (markert med stjerne på Bilde 5. 20 minutter etter at prøvetakingen starter slangene igjen flyttet nærmere merdkanten og etter 30 minutter ble

prøvetakingen avsluttet. Merk at det ikke ble tatt prøver helt inntil merdkanten pga. risikoen for å få med mye groe i prøvene og risiko for å sette fast slangene i noten.

Etter prøvetakingen ble planktonnettene spylt fra utsiden for å samle opp alt materialet i cod-enden av planktonnettet. Innholdet i cod-enden ble samlet i en 150 µm sil. Prøvematerialet ble deretter overført til prøvetakingsflasker med saltsprit. Prøvene ble fiksert med saltsprit for å bevare pigmenteringen i det innsamlede planktonet.

1 L Saltspritleøsning = 730 mL 96 % etanol + 270 mL saltvann

270 mL saltvann = 270 ml MilliQ-vann + 9,45 g NaCl

Analysering av planktonprøvene

Ettersom at det var mye materiale i prøvene ble de fleste av prøvene splittet ved hjelp av en motoda plankton-splitter før de ble analysert på ZooScan. ZooScan er en integrert prosess der programmene ZooProcess og EcoTaxa benyttes for å oppdage, tallfeste og måle objekter som har blitt scannet på spesial-scanner (Hydroptic ZSCA03). Metoden, maskinen og dataprogrammene er utviklet ved Observatoire Oceanaologique de Villfranche-sur-mer (Frankrike).

ZooProcess

Arbeidsprosessen i ZooProcess skisseres på Bilde 6. Her blir prøven(es) metadata registrert før et bakgrunnsbilde skannes. Bakgrunnsbildet vil senere bli trukket fra prøve som skannes. ZooProcess lar deg velge hvor stor oppløsning du ønsker å ha på bildene dine, i dette prosjektet valgte vi å bruke en oppløsning 4800 dpi. Skanningen skjer ved at prøven som skal analyseres legges på glassflaten i Hydroptic (Bilde 7). Deretter brukes en kaktuspinne for å separere dyr som er borti andre objekter. Etter at prøven er scannet får vi ett stort bilde av hele prøven. ZooProcess brukes da til å skille ut alle individuelle objekter til egne vinjetter.

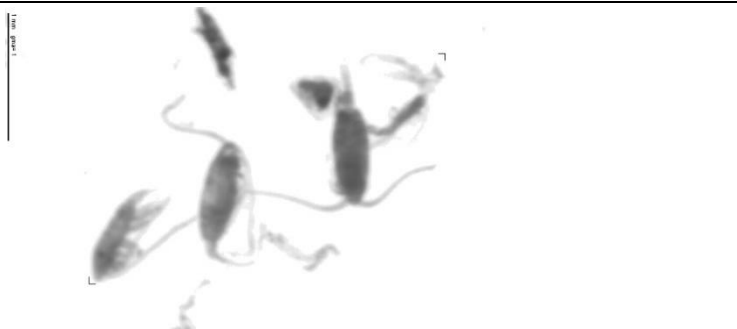
Dersom prøven har vært for tett, og det ikke har blitt brukt nok tid på å separere objekter før skanning eller det er mange fiber i prøven vil vi nå få en del tablå/bilder om består av flere individer (Bilde 8). Vi kan da enten gå tilbake og skanne en mindre del av prøven eller så kan vi bruke ZooProcess til å separere objektene på disse bildene Dersom vi gjør endringer i vinjettene må ZooProcess igjen separere vinjettene og lage nye tabeller og filer. En mer detaljert metodebeskrivelse for bruk av ZooProcess finnes i brukermanualen, Picheral & Elenau, 2018.



Bilde 6. Skissering av skanningsprosessen i ZooProcess, løst basert på Gorsky et al 2010.



Bilde 7. Hydroptic ZSCA03

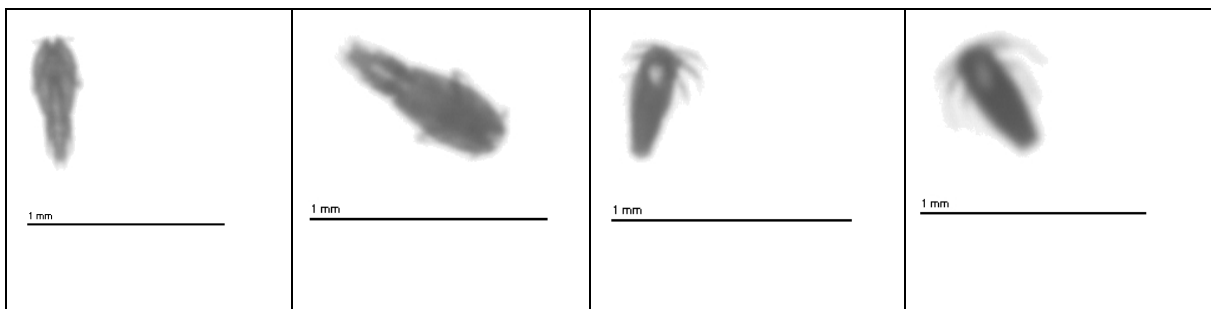


Bilde 8. Scannede bilder med flere copepoder der antennene er under eller henger sammen med andre individer vil regnes som ett objekt.

EcoTaxa

EcoTaxa er en egen nettside (www.ecotaxa.obs-vlfr.fr) der vi kan laste opp vinjetter, tabeller og filer generert av ZooProcess (Picheral et al., 2017). Her brukes et bildegjenkjenningsprogram til å identifisere f.eks. dyreplankton basert på form, størrelse, gjennomsiktighet og lignende (Bilde 9).

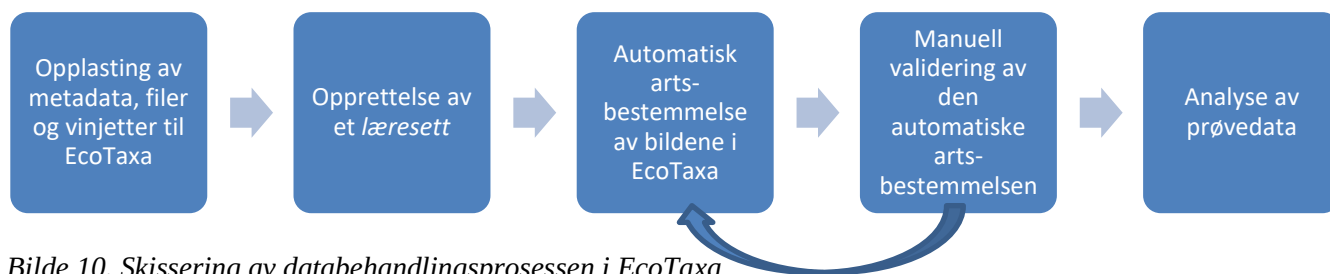
Etter at opplastingen av dataene er ferdig kan vi enten lage et nytt læresettt fra bunnen av eller du kan bruke et eksisterende prosjekt dersom du allerede har gjennomført et lignende prosjekt. Læresettet er en database av vinjetter som er validert til å tilhøre de gruppene eller artene av dyreplankton du er interessert i. Programmet bruker så bildegjenkjenning for å sortere vinjettene som du har lastet opp basert på læresettet.



Bilde 9. Vinjetter fra dyrkede kulturer. a) skottelus voksen b) lakselus voksen c) skottelus nauplii d) lakselus nauplii.

Ettersom vi ikke har jobbet med lakselus og skottelus tidligere var det nødvendig å bygge et godt læresettt. Vi dyrket selv opp rene kulturer av skottelus som vi fikk fra et oppdrettsanlegg utenfor Tromsø. Lakselus ble levert fra Havbruksstasjonen i Tromsø og Havforskningsinstituttet. Alle kulturene var fiksert på saltsprit og prøvene inneholdt individer på alle stadier. Kulturene ble lastet opp til EcoTaxa. Alle vignettene (bildene) fra de rene kulturene ble verifisert i fire separate grupper (Bilde 9). Dessverre klarte ikke programmet å

skille skottelus fra lakselus på naupliiestadiet. Kategoriene c) og d) ble derfor slått sammen til en kategori; Nauplii Skottelus og lakselus, før prøvene ble analysert.



Bilde 10. Skissering av databehandlingsprosessen i EcoTaxa

Som det fremgår av Bilde 10 ble den automatiske artsbestemmelsen i EcoTaxa kjørt i flere omganger etter manuelle valideringer av prediksjonene. Dette fordi en helst vil ha minimum 50 objekter per kategori for å få en god bildegjenkjenning og jo flere bilder en har i kategoriene en ser etter jo bedre blir gjenkjenningen, men den når et tak ved 500 objekter etter dette har det ikke så mye å si lenger, Picheral 2017.

Resultater og diskusjon

Forekomsten av dyreplankton varierte fra 130 og 300 000 individer per m^3 (Fig. 36), med de høyeste konsentrasjonene 29. august. Dette antas å ha sammenheng med stor oppblomstring av dinoflagellater i denne perioden. På dette tidspunkt var konsentrasjonen av zooplankton omtrent 100 ganger høyere enn på alle andre datoer, og var dominert av copepoder. Det var derfor vanskelig å analysere med hensyn på luselarver, siden man da må fraksjonere prøvene mange ganger før skanning/telling (fortynning opptil 1/512).

Lusenauplier, copepoditter av lus og døde individer av nauplier ble funnet i lave konsentrasjoner (Fig. 36), dvs. luselarver utgjorde en svært liten fraksjonen av den totale mengden plankton.

Caliguslarver av lus ble kun observert i to tilfeller; 25. juli på 3 m i referansemerd 6 (3,5 larver per m^3) og 01. oktober på 3 m i kontroll utenfor merd (0,4 larver per m^3). Copepoditter av lakselus ble også funnet i to tilfeller; 25. juli på 1 m i kontroll (0,4 larver per m^3) og 29. august på 3 m i referansemerd 7 (2,0 larver per m^3), og døde nauplier ble funnet på 5 m i merd 7 29. august.

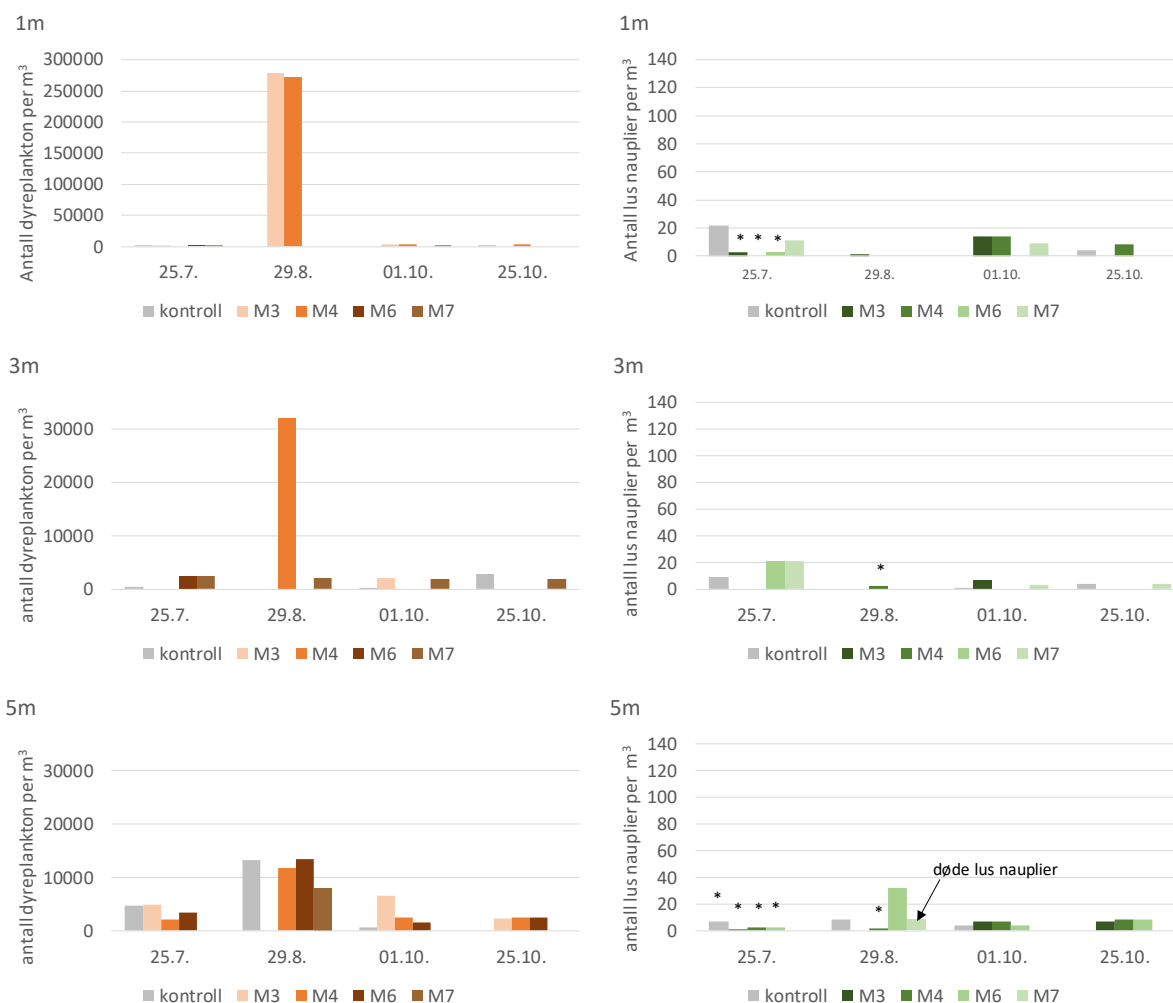
Det var ikke mulig å skille mellom lusenauplier av lakselus og skottelus, og dermed ble disse behandlet som en gruppe. Både på kontrollstasjonen utenfor anlegget og i både forsøksmerdene (M3 og 4) og referansemerdene (m6 og 7) ble nauplier funnet på alle prøvetakingsdatoer og de fleste dyp (Figur 36). Generelt var det hyppigere funn av nauplier på det dypeste vannsjiktet (4-5 m). Der en har manuelle kontrolltelling (merket med stjerne i Figur 36) på samme tidspunkt (25. juli) og dyp (5 m) på merder både med og uten ferskvannstilførsel samt på referansestasjonen utenfor anlegget, så en at forekomsten av lusenauplier var svært lav og av samme størrelsesorden i alle merdene (varierende fra 1-7 nauplier per m^3). Metode for kontrolltelling og vurdering av utfordringer ved identifisering og telling er gitt i vedlegg.

Utover dette er det vanskelig med sikkerhet å vurdere om det er forskjeller mellom merder med og uten ferskvannstilførsel, og i så fall er disse forskjellene svært små. Grunnen til dette relativt grove presisjonsnivået i analysene er at zoo-scanneren hadde en tendens til å overestimere tettheten av nauplier, samt at det var variasjon mellom replikate bilder som ble skannet (se rådata i vedlegg). Utvalget av prøver som ble telt manuelt i mikroskop viste en tetthet av

nauplier som var fra 1/5 til 1/10 av nauplie-konsentrasjonen som ble beregnet basert på bildeanalyser fra zoo-scanneren.

I tillegg måtte prøver med høyt innhold av plankton fortynnes for å kunne skille enkeltindivider på zoo-scanneren. Spesielt gjaldt dette prøver fra 29. august. Siden lusenauplier var en relativt liten del av den totale planktonfraksjonen førte dette til en uforholdsmessig høy fraksjonering av nauplier, og en tilsvarende risiko for overestimering. F.eks. ble det i de fortynnede prøvene kun registrert én nauplie, som på grunn av fortynningen førte til beregning av 256 individer per m³. Ved manuell kontrolltelling av ufraksjonerte prøver i mikroskop viste det seg at beregningen av nauplier basert på bilder fra zoo-skanner ved de høye tetthetene av dyreplankton var mer enn 100 ganger overestimert (se data i vedlegg). Disse estimatene basert på zoo-skanner er i analysene (Figur 36) erstattet med data fra kontrolltellingene. Det hefter derfor usikkerhet ved data på nauplie-tetthet som kun er basert på zoo-skanner.

Ferskvannslaget i overflaten av forsøksmerdene (merd 3 og 4) var relativt tydelig i forkant av de to prøvetakingene, med en spesielt tydelig haloklin på 0,5 – 1,0 meter i perioden 7. – 14. juli og 1. – 11. august (Figur 15 og Figur 16). Etter august var det ingen klar haloklin. Gjennom hele forsøksperioden var det lite salinitetsendringer dypere enn to meter.



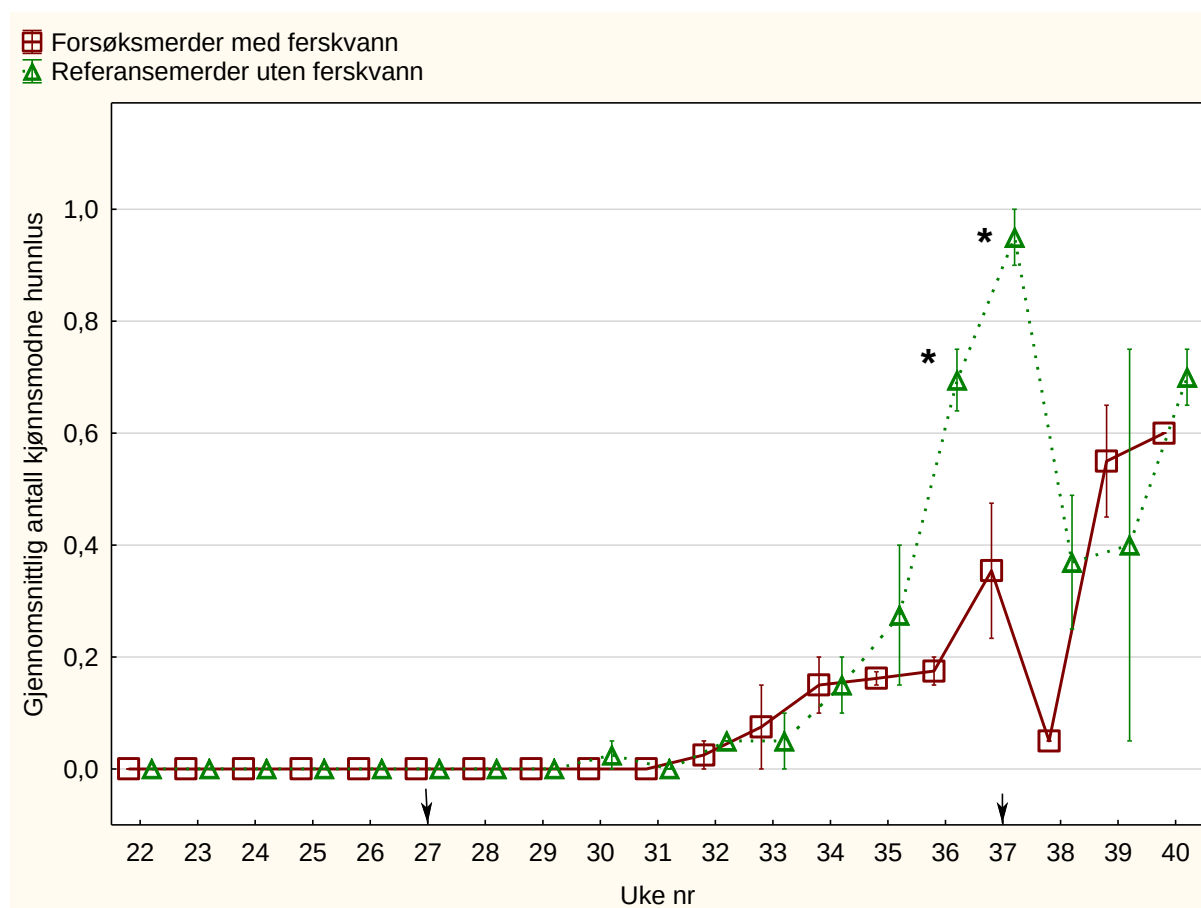
Figur 36. Forekomst av dyreplankton (til venstre) og av nauplier av lakselus og skottelus på tre dyp i forsøksmerder (3 og 4), referansemerder (6 og 7) og utenfor merd (kontroll) på fire prøvetakingstidspunkt. Obs! Bare prøver med samtidig forekomst av lakselus ble tatt med.

Selv om forekomsten av luselarver (nauplier) generelt var lavt og vi, med det presisjonsnivået analysemetodene tillot, ikke fant variasjon mellom merder med og uten ferskvannstilsetning, er den betydelige forskjellen i totalforekomst av dyreplankton mellom forsøksmerdene og referansemerdene 29. august. interessant siden denne var av en helt annen størrelsesorden enn for luselarver. Vi kjenner ikke til salinitetspreferansene til denne sammensatte gruppen av dyreplankton, men i tillegg til ferskvannstilførselen var forsøksmerdene karakterisert ved at de var omkranset av en 2 m dyp lense (skjørt), i motsetning til referansemerdene.

Den spesifikke effekten lensene har i forhold til skjerming for innsig av plankton (inkludert luselarver), kan i perioder ved innsig av luselarver i de øvre vannlagene, skjerme merdene mot infeksjon av lus, og på den måten ha en lignende (men muligens mer avgrenset) virkning som dypere luseskjørt (Stien m.fl. 2018) og plankton-nett (Grøntvedt m.fl. 2018). Lensene gir en tilsvarende muligheten til å holde på (og over tid oppkonsentrere) plankton som måtte sige inn i merdene fra dypet under eller ved turbulens i underkant av lensene, og vil da kunne gi en opphopning av plankton. Dette er en mulig forklaring på den økte konsentrasjonen av dyreplankton i forsøksmerdene i overflatelaget 29. august (*Figur 36*).

Registrering av lakselus og skottelus på laks

Det ble registrert forskjeller i lusepåslag mellom forsøksgruppene basert på ukentlige lusetellinger på 20 fisk per merd. Skottelus ble også registrert. Kjønnsmodne hunnlus ble observert fra uke 30, og viste en gradvis økende forekomst i begge gruppene frem mot en topp i uke 37 (Figur 37). Det ble besluttet, basert på de høye lusetallene i referansemerdene å avluse alle gruppene samme uke. Avlusningen var ikke vellykket, og basert på høye lusetall uke 40 ble det besluttet å avlus igjen i uke 41.

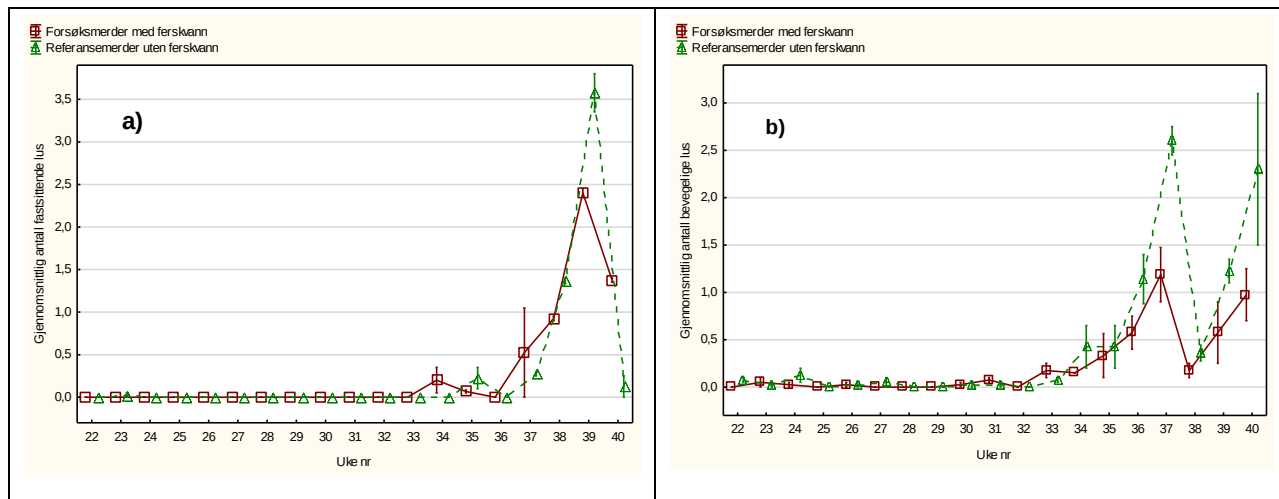


Figur 37. Utvikling i antall kjønnsmodne hunnlus per uke for laks i merder (n=2) tilført ferskvann og åpne referansemerder (n=2) uten ferskvannstilsetning (referanse). Vertikale linjer i punktene indikerer standard feil (SEM). Signifikante forskjeller (en-veis ANOVA, $p < 0,05$) mellom gruppene på de enkelte tidspunktene (uke nr.) er indikert med *. Pilene indikerer hhv. start ferskvannstilførsel (uke 27) og første avlusning (uke 37).

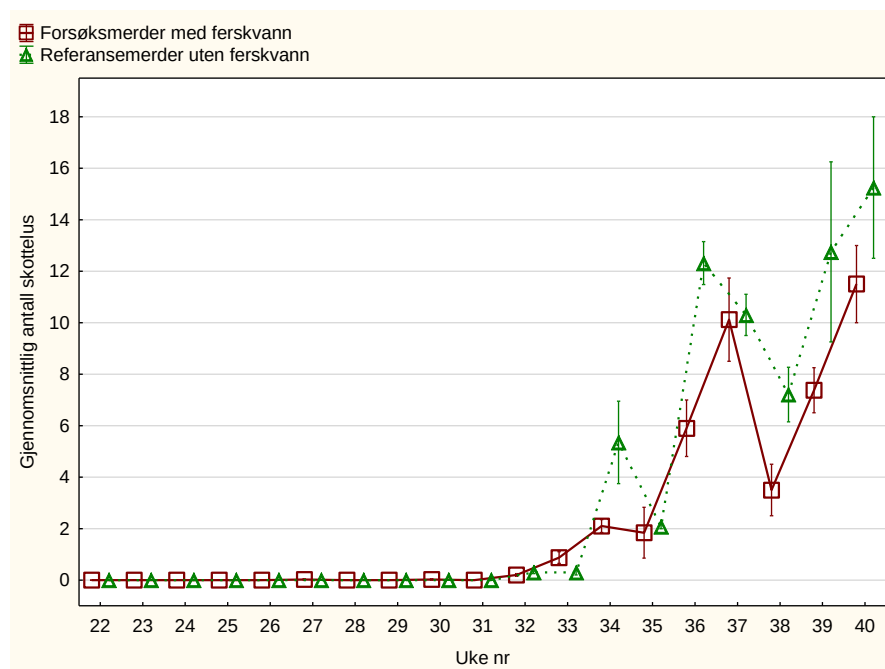
Selv om både forsøksmerder og referansemerder ble avluset samtidig varierte behandlingseffekten mellom merdene og på de ulike stadiene av lakselus, og man hadde derfor ikke et sikkert nok grunnlag for å evaluere den isolerte effekten av ferskvannstilførsel etter avlusningene. De høyere lusetallene i referansemerdene uke 40 kan f.eks. skyldes mindre effekt av avlusningen i disse merdene sammenlignet med testmerdene. Den hurtigere reinfiseringen i referansemerden kan tyde på at dette har inntruffet. Analysene for effekt av ferskvannsblanding er derfor basert på perioden fra uke 22 til 37 (Figur 37).

Det var en klar utvikling med lavere antall hunnlus (med og uten eggstreng) i merdene tilsatt ferskvann sammenlignet med referansemerkene frem til uke 37 (Figur 37, 3-veis nøstet ANOVA med behandlingsgrupper nøstet i uker og replikater nøstet i behandlingsgrupper, $p < 0,001$, $F = 11,89$). Analyser på enkelttidspunkter (ukesvis fra uke 30-37) viser det samme (en-veis ANOVA, $p < 0,05$).

Den samme statistiske signifikante forskjell ble observert for bevegelige stadier av lakselus (Figur 38b, $p < 0,001$, $F = 5,48$) og skottelus (Figur 39, $p < 0,001$, $F = 5,38$), men ikke for fastsittende stadier av lakselus (Figur 38a) frem til uke 37.



Figur 38. Utvikling i gjennomsnittlig antall fastsittende lus (a) og bevegelige lakselus (b) for grupper tilsatt ferskvann ($n=2$) og grupper uten ferskvannstilsetning ($n=2$). Vertikale linjer i punktene indikerer standard feil (SEM).



Figur 39. Utvikling i gjennomsnittlig antall skottelus for grupper tilsatt ferskvann ($n=2$) og grupper uten ferskvannstilsetning ($n=2$). Vertikale linjer i punktene indikerer standard feil (SEM).

Ser man perioden fra uke 22 til 37 under ett var det i forsøksmerdene 48 % mindre bevegelige lus, 57 % mindre forekomst av modne hunn lus og 31 % mindre forekomst av skottelus sammenlignet med referansemålingene (gjennomsnitt for begge replikater). For fastsittende lus derimot var antallet 34 % høyere sammenlignet med referansemålingene uten ferskvann.

Det lavere lusenivået i merdene tilsatt ferskvann er noe overraskende tatt i betraktning ustabiliteten i ferskvannslaget og at det ikke ble funnet klare forskjeller i forekomsten av luselarver som utgjør smittepresset. Ferskvannsstrategien i det undersøkte konseptet er rettet mot luselarvene, og er fundert på at larvene, i motsetning til fastsittende lus, har lav toleranse for ferskvann (Bricknell m. fl. 2016, Oppedal m.fl. 2019), og at infeksjonspresset derfor reduseres med redusert salinitet. Strategien er også fundert på at luselarver er positivt fototaktiske og dermed trekker mot overflaten inntil de eventuelt møter en haloklin.

Basert på gjennomsnittstemperaturen på 10 m hvor laksen hovedsakelig oppholdt seg (9,7 °C) og den temperaturavhengige utviklingsmodellen for de forskjellige stadiene av lakselus (Dalvin og Oppedal 2019) har smitten som førte til det høye antall voksne hunn lus uke 37 skjedd 40-50 dager tidligere, dvs. ca. uke 30. Uke 30 var tidspunkt for første prøvetaking av plankton, som viste små forskjeller i forekomsten av nauplier mellom merder med og uten ferskvann (*Figur 36*).

Det er derfor vanskelig å trekke direkte linjer mellom enkeltmålinger av luselarver og smittepress (seinere forekomst av adult lus), men det kan tenkes at smittepresset ikke bare er knyttet til antall larver i vannmassene, men også er påvirket av fitnessen (overlevelsessevnen/robustheten) til disse larvene, og dermed evnen til å feste seg og evnen til å overleve etter at den har festet seg til verten.

Det er tidligere vist at smitteeffektiviteten hos luselarver (summen av påslag og overlevelse) faller med temperaturen (Dalvin og Oppedal 2019), og at larver utviklet på lavere temperatur smitter mindre. Det kan tenkes at salinitet har tilsvarende påvirkning på fitness. Basert på den lave toleransen luselarver har for redusert salinitet, med økt dødelighet på copepoditter allerede ved 29 ppt. (Bricknell m. fl. 2016) og unnvikelse av brakkevann for nauplier allerede ved 32 ppt. (Oppedal m.fl. 2019), kan det tenkes at f.eks. osmotisk stress som larvene utsettes for ved redusert salinitet kan redusere fitness, og dermed øker tapsraten i perioden fra påslag til voksen lus. Økt synkehastighet ved redusert salinitet kan også gi økt energiforbruk ved at larvene forsøker å holde seg i overflaten (Bricknell m. fl. 2016), og reduserer da også fitness. Videre er det vist at nauplier ikke utvikler seg til copepoditter ved saliniteter lavere enn 25 ppt (Johnson & Albright 1991). Summen av dette antyder at selv ved lik forekomst av luselarver vil et miljø med redusert salinitet gi lavere forekomst av voksen lus sammenlignet med et miljø på fullt sjøvann.

Konklusjoner

Forsøket viser at ferskvannstilførsel til merder omkranset av en 2m dyp lense/skjørt muliggjør etablering av et brakkevannssjikt i overflaten som kan bidra til redusert smitte av lakselus. Det gjenstår et betydelig arbeid for optimalisering og stabilisering av en slik ferskvannsadministrasjon, spesielt for å utvikle konseptet for en hel lokalitet.

Det ble funnet forekomster av luselarver på alle målestasjonene og dyp gjennom hele forsøket, med generelt lave konsentrasjoner. En fant ikke forskjeller i forekomsten av luselarver mellom merder med og uten ferskvann, men lusetellinger viste likevel lavere forekomst av bevegelige stadier og voksen hunn lus i merder med ferskvann. En mulig forklaring på dette er at reproduksjonsevne og overlevelse reduseres for luselarver som jevnlig eksponeres for redusert salinitet.

Uforutsette hendelse som ga ustabilitet i ferskvannstilførselen og behovet for avlusing tidlig i forsøket begrenset perioden med stabile forhold hvor den rene effekten av ferskvannstilsetning kunne undersøkes. Ny uttesting over lengre tid under stabile og optimaliserte forsøksbetingelser samt undersøkelser av respons på salinitet i forhold til smitteeffektivitet i kontrollerte forsøk vil være viktig for å dokumentere potensialet som ligger i dette konseptet for regulering av salinitet i merd som forebyggende tiltak mot lakselus.

Referanser

- Bricknell I. R., Dalesman S. J., O'shea B., Pert C. C., Mordue Luntz A. J. (2006). Effect of environmental salinity on sea lice *Lepeophtheirus salmonis* settlement success. *Dis. Aquat. Organ.* 71, 201–212.
- Dalvin, S., Oppedal, F. (2019). Utvikling av lakselus ved ulike temperaturer og lys. Rapport fra Havforskningen Nr. 2019-13, 20 sider.
- Genna R. L., Mordue W., Pike A. W., Mordue A. J. (2005). Light intensity, salinity, and host velocity influence presettlement intensity and distribution on hosts by copepodites of sea lice, *Lepeophtheirus salmonis*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 62, 2675–2682. ([doi:10.1139/f05-163](https://doi.org/10.1139/f05-163)).
- Gorsky G. et al (2010) Digital zooplankton image analysis using the ZooScan integrated system, *Journal of plankton research* vol 32, pp. 285-303.
- Groner, M.L., McEvan, G.F., Rees, E.E., Gettinby, G., Revie, C.W. (2016). Quantifying the influence of salinity and temperature on the population dynamics of a marine ectoparasite. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 73, 1281–1291 ([doi:10.1139/cjfas-2015-0444](https://doi.org/10.1139/cjfas-2015-0444)).
- Grøntvedt, R.N., Kristoffersen, A.J., Jansen, P.A. (2018). Reduced exposure of farmed salmon to salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis* L.) infestation by use of plankton nets: Estimating the shielding effect. *Aquaculture* 495, 865-872.
- Heuch P. A., Olsen R. S., Malkenes R., Revie C. W., Gettinby G., Baillie M., Lees F., Finstad B. (2009). Temporal and spatial variations in lice numbers on salmon farms in the Hardanger fjord 2004–06. *J. Fish Dis.* 32, 89–100.
- Johnson, S.C., Albright, L.J. (1991). Development, growth, and survival of *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda, Caligidae) under laboratory conditions. *J Mar Biol Assoc UK* 71: 425–436
- Nilsen, M.K. (2016). Sampling strategies, distribution and concentration of planktonic salmon lice copepods in the outer Hardangerfjord and the Altafjord. Masteroppgave, Universitetet i Tromsø, 56 sider.
- Oppedal, F., Dalvin, S., Wright, D., Crosbie, T., Szetey, A., Coates, A., Sievers, M., Ditria, E., Bui, S., Nilsson, J., Stien, L., Oldham, T., Dempster, T. (2019). Lakselusa – når og hvor? FHF's Lusekonferanse 2019, Trondheim 21-23 januar.
- Oppedal, F., Dempster, T., Stien, L.H. (2011). Environmental drivers of Atlantic salmon behaviour in sea-cages: a review. *Aquaculture* 311, 1-18.
- Picheral M. & Elineau A. (2018) Zooscan Manual to scan and process samples, Quantitative Imagery Platform of Villefranche sur Mer (PIQv), Manual <https://drive.google.com/file/d/1ENfnJDe1PySEReW1uvk0kOUXgQQfNaR/view>.

- Picheral M. (2017), Ecotaxa training Picheral 2017 03 16 part A, YouTube, <https://www.youtube.com/watch?v=PSO6ZS765tk&feature=youtu.be>.
- Picheral M., Colin S., Irssom J-O (2017) EcoTaxa, a tool for the taxonomic classification of images, <http://ecotaxa.obs-vlfr.fr>.
- Stien, L.H., Lind, M.B., Oppedal, F., Wright, D.W., Seternes, T. (2018). Skirts on salmon production cages reduced salmon lice infestations without affecting fish welfare. *Aquaculture* 490, 281-287.

Vedlegg

Metodebeskrivelse for manuell identifisering og kontrolltelling av luselarver

Vannprøvene ble lett rørt i, så overført til en sil og conserveringsmidlet ble silt av i et begerglass. Spruteflaske ble brukt for å få hele prøven overført. Så ble prøven overført fra silen til et rent begerglass og vannet ut med filtrert sjøvann via spruteflaske til den ikke hadde så stor tetthet av organismer lengre. Etter det ble litt og litt av prøven overført til et tellekammer ved bruk av engangspipette for så å bli analysert under lupe (Leica MZ 16, 40 – 100 x forstørrelse). Når delprøvene var ferdig analysert ble tellekammer tømt i et nytt begerglass, og spruteflaske brukt for å sørge for at alt ble fjernet. Etter at hele prøven var gjennomgått slik, ble den ferdiganalyserte prøven igjen filtrert over en sil for å fjerne ekstra filtrert sjøvann, så preservert igjen.

Bilde: Lupe for telling av larver.



Kommentar til ulike funn i Zoo-skanner og manuell analyse:

Det er mange detaljer som ikke kommer frem på bildene fra EcoTaxa (biblioteket for de scannede bildene). Ved manuelle analyserer ble det brukt lupe, og dersom objektene var uklare ble det benyttet mikroskop for å sikre nøyaktige målinger. Ved manuell telling har en anledning til å snu og vende på dyrene, og ikke minst se pigmenteringene. Dette gir en bedre identifisering enn i zoo-scanneren. Se eksemplet med copepoden under, t.v ser en hvordan en copepoden så ut i lupen, og t.h. hvordan dette kan se ut i EcoTaxa.



Dette er helt tydelig en lakselus-copepoditt (over t.v), med et tydelig øye. Øyet er mørkt, og ikke rødt, derfor er det lett å skille denne fra en copepode av skottelus. I det scannete bildet av copepoden t.h. er det veldig vanskelig å se om dette er en lakselus eller ikke. Ved validering av bildene i EcoTaxa får man kun sett på form på dyret, og derfor er det vanskeligere å identifisere mer nøyaktig i forhold til art (skille mellom larver av lakselus og skottelus).

Under er bilde av nauplii fotografert fra digitalt mikroskop. Her ser en hvor mye lettere analysen er manuelt, fremfor igjennom bilder fra zoo-scanner.



Rådata fra analyser av plankton og luselarver. Tall markert med gult er kvalitetssikrede tall (manuell telling i mikroskop) og tall fra zoo-skanner (i parentes).

Merd 3 (forsøk)				
merd 3, 1m	25.7.	29.8.	01.10.	25.10.
Lepeophtheirus	0,0	0,0	0,0	0,0
Caligus	0,0	0,0	0,0	0,0
Lakse-/skottelus nauplii	2,6	1,5 (256)	13,9	0,0
andre	404,3	277888,0	3186,1	na
merd 3, 3m	25.7.	29.8.	01.10.	25.10.
Lepeophtheirus	0,0	0,0	0,0	0,0
Caligus	0,0	0,0	0,0	0,0
Lakse-/skottelus nauplii	0,0	0,0	7,0	0,0
andre	na	na	2107,8	na
merd 3, 5m	25.7.	29.8.	01.10.	25.10.
Lepeophtheirus	0,0	0,0	0,0	0,0
Caligus	0,0	0,0	0,0	0,0
Lakse-/skottelus nauplii	1 (21)	0,0	7,0	7,0
andre	4827,8	na	6594,8	2176,0
Merd 4 (forsøk)				
merd 4, 1m	25.7.	29.8.	01.10.	25.10.
Lepeophtheirus	0,0	0,0	0,0	0,0
Caligus	0,0	0,0	0,0	0,0
Lakse-/skottelus nauplii	0,0	0 (256)	13,9	8,0
andre	na	272640,0	3234,8	3544,0
merd 4, 3m	25.7.	29.8.	01.10.	25.10.
Lepeophtheirus	0,0	0,0	0,0	0,0
Caligus	0,0	0,0	0,0	0,0
Lakse-/skottelus nauplii	0,0	112,0	0,0	0,0
andre	na	31968,0	na	na
merd 4, 5m	25.7.	29.8.	01.10.	25.10.
Lepeophtheirus	0,0	0,0	0,0	0,0
Caligus	0,0	0,0	0,0	0,0
Lakse-/skottelus nauplii	2,5 (14)	2,5 (24)	1,5 (7)	8,0
andre	2104,3	11640,0	2427,8	2456,0
Merd 6 (ref)				
merd 6, 1m	25.7.	29.8.	01.10.	25.10.
Lepeophtheirus	0,0	0,0	0,0	0,0
Caligus	0,0	0,0	0,0	0,0
Lakse-/skottelus nauplii	2,5 (1,3)	0,0	0,0	0,0
andre	130,0	na	na	na
merd 6, 3m	25.7.	29.8.	01.10.	25.10.
Lepeophtheirus	3,5	0,0	0,0	0,0
Caligus	0,0	0,0	0,0	0,0
Lakse-/skottelus nauplii	20,9	0,0	0,0	0,0
andre	2542,6	na	na	na
merd 6, 5m	25.7.	29.8.	01.10.	25.10.
Lepeophtheirus	0,0	0,0	0,0	0,0
Caligus	3,5	0,0	0,0	0,0
Lakse-/skottelus nauplii	2 (31)	32,0	3,5	8,0
døde nauplier	3,5	0,0	0,0	0,0
andre	3311,3	13408,0	1509,6	2504,0
Merd 7 (ref)				
merd 7, 1m	25.7.	29.8.	01.10.	25.10.
Lepeophtheirus	0,0	0,0	0,0	0,0
Caligus	0,0	0,0	0,0	0,0
Lakse-/skottelus nauplii	11,3	0,0	8,7	0,0
andre	266,1	na	1236,5	na
merd 7, 3m	25.7.	29.8.	01.10.	25.10.
Lepeophtheirus	0,0	2,0	0,0	0,0
Caligus	0,0	0,0	0,0	0,0
Lakse-/skottelus nauplii	20,9	0,0	3,5	4,0
nauplii under klekking	3,5	0,0	0,0	0,0
døde nauplier	0,0	4,0	0,0	0,0
andre	2542,6	2094,0	1927,0	1948,0
merd 7, 5m	25.7.	29.8.	01.10.	25.10.
Lepeophtheirus	0,0	0,0	0,0	0,0
Caligus	0,0	0,0	0,0	0,0
Lakse-/skottelus nauplii	0,0	0,0	0,0	0,0
døde lus	0,0	8,0	0,0	0,0
andre	na	8008,0	na	na
Kontroll (utenfor anlegget)				
Kontroll, 1m	25.7.	29.8.	01.10.	25.10.
Lepeophtheirus	0,4	0,0	0,0	0,0
Caligus		0,0	0,0	0,0
Lakse-/skottelus nauplii	21,7	0,0	0,0	4,0
andre	449,1	na	na	2324,0
Kontroll, 3m	25.7.	29.8.	01.10.	25.10.
Lepeophtheirus	0,0	0,0		0,0
Caligus	0,0	0,0	0,4	0,0
Lakse-/skottelus nauplii	9,1	0,0	0,4	4,0
andre	469,6	na	195,7	2804,0
Kontroll, 5m	25.7.	29.8.	01.10.	25.10.
Lepeophtheirus	0,0	0,0	0,0	0,0
Caligus	0,0	0,0	0,0	0,0
Lakse-/skottelus nauplii	7 (42)	8,0	4,0	0,0
andre	4623,0	13248,0	620,9	na

Resultater fra kvalitetssikring av tellinger fra zoo-skanner: to replikate scanninger (fortynnede prøveutvalg) og manuell telling av ufortynnede prøver i mikroskop.

Lokalitet	dyp (m)	Dato	Antall skann	Fraksjon (1/x)	Resultat scann 1	Resultat scann 2	Resultat manuell
Merd 3	5	25.7.	2	16 og 64	13,9	27,8	1,0
Merd 4	5	25.7.	1	8	13,9	N/A	2,5
Merd 6	5	25.7.	1	8	31,3	N/A	2,0
kontroll	5	25.7.	1	8	41,7	N/A	7,0
Merd 3	1	29.8.	3	256/512	256,0	256,0	1,5
Merd 4	1	29.8.	2	512/ 512	256,0	0,0	0
Merd 4	3	29.8.	2	64/64	64,0	160,0	2,5
Merd 4	5	29.8.	2	32/32	32,0	16,0	1,5
Merd 6	1	29.8.	3	04.apr	0,0	0,0	
Merd 6	3	29.8.	3	16/16	0,0	0,0	