

Mikael Hansen Furberg

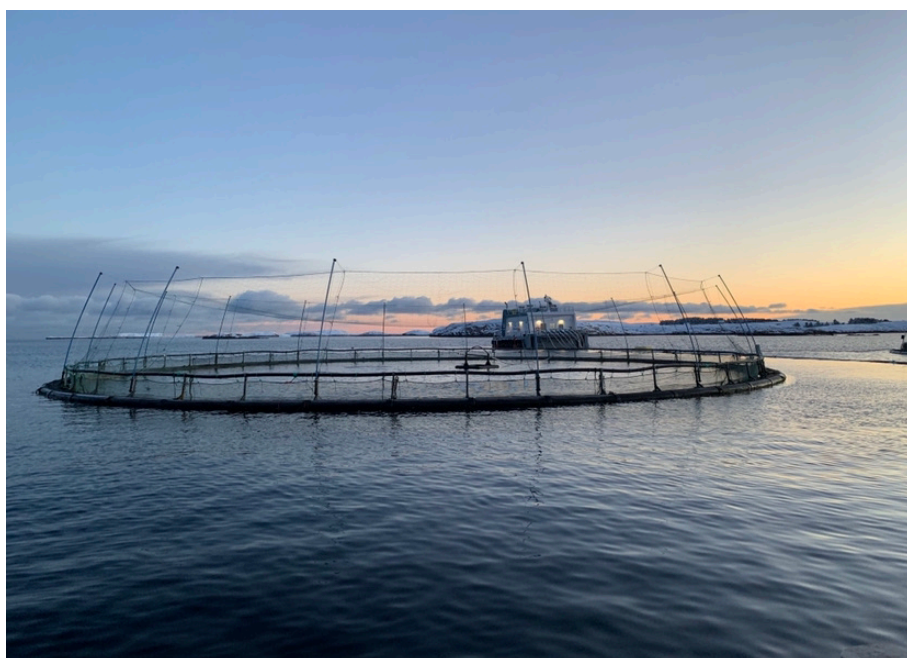
Sammenlikning av mekanisk og termisk avlusing: Klekkesuksess og larveutvikling fra eggstrenger med vurdering av smittepotensial hos lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*)

Masteroppgave i Ocean Resources

Veileder: Yngvar Olsen

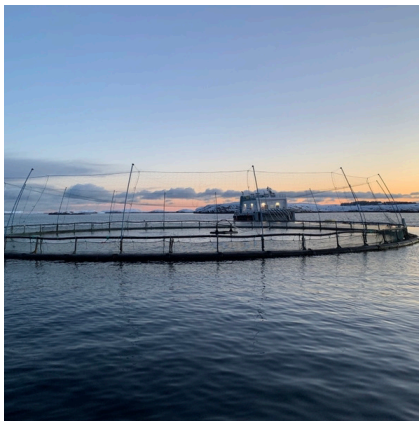
Medveileder: Anna Solvang Båtnes, Cecilie Miljeteig og Aoife Westgård

Juni 2022



Mikael Hansen Furberg

Sammenlikning av mekanisk og termisk avlusing: Klekkesuksess og larveutvikling fra eggstrenger med vurdering av smittepotensial hos lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*)



Masteroppgave i Ocean Resources

Veileder: Yngvar Olsen

Medveileder: Anna Solvang Båtnes, Cecilie Miljeteig og Aoife Westgård

Juni 2022

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet

Fakultet for naturvitenskap

Institutt for biologi



NTNU

Kunnskap for en bedre verden

Sammendrag

Norsk lakseoppdrett har hatt en god økonomisk og produksjonsmessig vekst siden 2000-tallet. De siste årene har produksjonen likevel stagnert på grunn av utfordringer med lakselus (*Lepeophtheirus salmonis* Krøyer, 1837). Mekaniske og termiske avlusingsmetoder utgjør i dag de hyppigst benyttede behandlingsmetodene mot lakselus. Ingen av disse metodene er 100 % effektive, noe som gjør at noe lus også kommer tilbake til merda og utgjør en risiko for videre smitte. Målet for denne studien var å undersøke og sammenligne klekking og overlevelse av lakselus-larver som klekker fra eggstrenger som har vært gjennom mekaniske (Hydrolicer og SkaMik) og termiske (Optilicer) avlusingsmetoder og å vurdere smittepotensialet til disse lakselus-larvene etter behandling. Eggstrenger som ikke hadde vært behandlet (FØR-prøver) ble sammenlignet med eggstrenger som hadde gått gjennom de ulike behandlingstypene (ETTER-prøver). Eggstrengpar/single eggstrenger fra opp til 10 kjønnsmodne hunnlarver fra tre ulike prøvetidspunkter (FØR, FILTER og ETTER) i behandlingen ble klekket under kontrollerte betingelser i laboratorie, der nauplie- og kopepoditt stadiene ble kvantifisert. Andelen eggstrenger som klekket var lik mellom FØR- og ETTER-prøvene (hhv. 85-98 og 88-95 %) for de ulike behandlingstypene. Det var ingen forskjell i gjennomsnittlig klekkeprosent (prosent nauplier per totalt antall egg i eggstrengen) mellom eggstrengene i FØR-prøvene (52,2-66,1 %) og ETTER-prøvene (57,6-66,0 %), og heller ikke mellom de ulike behandlingstypene. FØR- og ETTER-prøvene for Hydrolicer og SkaMik var like for både kopepoditt-overlevelse (prosent aktive kopepoditter per totalt antall egg i eggstrengen) og antall aktive kopepoditter per eggstreng.

Det ble derimot registrert en signifikant lavere overlevelse av kopepoditter for ETTER-prøvene sammenlignet med FØR-prøvene for Optilicer både i % (FØR; $59,2 \pm 22,7$ %, ETTER; $39 \pm 26,4$ %) og antall kopepoditter per eggstreng (FØR; 213 ± 100 individer, ETTER; 129 ± 105 individer; $p < 0,05$). Det var også forskjell mellom FØR- og ETTER-prøvene for Optilicer i overlevelsen fra nauplie til kopepoditt-stadiet (prosent aktive kopepoditter per totalt antall aktive nauplier fra eggstrengen). Dette betyr at Hydrolicer og SkaMik har liten, og lik, påvirkning på klekking og larveutvikling, mens Optilicer sannsynligvis har en viss påvirkning på utviklingen til kopepoditt og at det derfor er noe færre kopepoditter som kan smitte videre etter termisk behandling. Det estimerte smittepotensialet etter behandling var høyt for alle metodene, mellom 1,22-4,60 millioner aktive kopepoditter (10-39 per fisk) fra hver merdbehandling. Det kunne imidlertid ikke konkluderes om en behandlingstype hadde et lavere smittepotensial enn de andre som følge av få observasjoner og stor variasjon mellom merdbehandlinger, men Optilicer kan ha generert et noe lavere smittepress etter behandling.

Abstract

Norwegian salmon farming has had good economic and production growth since the 2000s. Production has stagnated in recent years, partly as a result of the growing salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis* Krøyer, 1837) problem. The most commonly used treatments against salmon lice today are mechanical and thermal delousing methods. None of these methods are 100% effective, which means that some lice also return to the cage and pose a risk of further infection. The aim of this study was to investigate and compare hatching and survival of salmon lice larvae that hatch from egg strings that have been through mechanical (Hydrolicer and SkaMik) and thermal (Optilicer) delousing and to assess the infection potential of these larvae after treatment. Egg strings that had not been treated (FØR/Before-samples) were compared with egg strings that had undergone the different types of treatment (ETTER/After-samples). Up to 10 egg string pairs / single egg strings from three different sampling points (Before, Filter, After) in the treatment were hatched under controlled conditions in the laboratory, where the nauplii and copepodid stages were quantified. The proportion of egg strings that hatched was equal between the before and after samples (respectively 85-98 and 88-95 %) for the different types of treatment. There were no differences in hatching success (percent nauplii per total number of eggs in the egg string) between the egg strings that had not been treated (before-samples; 52.2-66.1 %) and those that had been treated (after-samples; 57.6-66.0 %), nor between the different types of treatment. Before- and After-samples for Hydrolicer and SkaMik were equal for both copepodid survival (percentage of active copepodids per total number of eggs in the egg string) and the number of active copepodids per egg string. On the other hand, a significantly lower survival of copepodids was registered when comparing before-samples with after-samples for Optilicer ($p = 0.006$) both in % (Before; 59.2 ± 22.7 %, After; 39 ± 26.4 %) and number of active copepodids (Before; 213 ± 100 , After; 129 ± 105). This means that Hydrolicer and SkaMik have a small, and equal, impact on hatching and larval development, while Optilicer probably has a certain effect on the development of copepodids and that therefore it may be fewer copepodids that can infect after thermal delousing. The estimated infection potential after treatment was high, between 1.22-4.60 million possible active copepodids (10-39 per fish) from each cage treatment. It could not be concluded that one type of treatment had a lower infection potential than the others as a result of few observations and high variation between cage treatments, however Optilicer may have generated a somewhat lower infection potential after treatment.

Forord

Denne masteroppgaven var i samarbeid med FoU-prosjektet Taskforce lakselus ved NTNU, og er en del av prosjektet som omhandler ikke-medikamentell kontroll av lus: sammenlikning av avlusingsmetoder på bakgrunn av forebyggende tiltak, avlusingseffekt, fiskevelferd og smittepotensial etter avlusing (SAMLUS).

Jeg vil rette en stor takk til hovedveileder Yngvar Olsen, medveilederne Anna Solvang Båtnes og Cecilie Miljeteig og ekstern veileder Aoife Westgård som har bidratt til denne oppgaven med veiledning, støtte og konstruktive tilbakemeldinger gjennom hele perioden. Deres tilgjengelighet gjennom prosjektet og raske tilbakemeldinger har jeg satt stor pris på. Jeg ønsker også å takke min medstudent Sondre Strand Hansen som har hjulpet meg med å samle inn data til oppgaven under feltperioden med håving av x antall fisk, bidratt med kunnskap og vært en god støtte gjennom hele prosjektet.

For utvikling av klekkeriet ønsker jeg å takke Dag Altin og Arne Kjøsnes ved NTNU Sealab for å ha kommet med gode forslag, vært behjelpelig under hele prosessen samt lån av utstyr. Uten dere hadde vi ikke fått et godt fungerende klekkeri.

En takk til alle bedrifter, oppdrettere og samarbeidspartnere til SAMLUS-prosjektet som har hjulpet oss mye under feltarbeidet og gitt oss muligheten til å komme på deres anlegg og avlusingsfartøy. Spesiell takk til Aqua Kompetanse AS for lån av lokaler under feltperioden i Rørvik.

Innhold

Sammendrag	I
Abstract	III
Figurer	IX
Tabeller	XI
Forkortelser/begreper.....	XIII
1 Introduksjon	1
1.1 Betydningen av lakselus for norsk akvakultur	1
1.2 <i>Lepeophtheirus salmonis</i> og dens livssyklus	2
1.3 Mekanisk og termisk avlusing	4
1.3.1 SkaMik og Hydrolicer	4
1.3.2 Optilicer	6
1.4 Smittepotensial etter avlusing.....	8
1.5 Mål	8
2 Metode.....	9
2.1 Feltområde.....	9
2.2 Innsamling av eggstrenger.....	10
2.2.1 Materiale	10
2.2.2 Behandling av materiale ved innsamling	12
2.3 Klekkeri	13
2.3.1 Resirkuleringsklekkeri	13
2.3.2 Gjennomstrømmingsklekkeri	15
2.3.3 Inkubering av eggstrenger	15
2.4 Estimering av egg i eggstrenger og telling av nauplier og kopepoditter.....	15
2.4.1 Estimering av antall egg i eggstrenger	15
2.4.2 Telling av nauplier og kopepoditter.....	17
2.5 Systematisering av data, analyse og statistikk.....	18

3	Resultater.....	19
3.1	Bakgrunnsdata, lusetall og behandlingseffekt fra merdbehandlingene	19
3.2	Før behandling	21
3.2.1	Eggstrenglengde	21
3.2.2	Klekkeprosent.....	22
3.3	Klekke- og utviklingssuksess under og etter avlusing	23
3.3.1	Andel eggstrenger som klekket.....	23
3.3.2	Klekkeprosent og overlevelse til kopepoditt-stadiet	24
3.3.3	Antall kopepoditter per eggstreng	26
3.3.4	Overlevelse fra nauplie til kopepoditt	27
3.4	Smittepotensial etter behandling	29
4	Diskusjon	33
4.1	Behandlingseffekt	33
4.2	Utgangspunktet for behandlingene	34
4.3	Klekking og overlevelse av lakselus-larver etter behandling med ulike avlusingsmetoder	36
4.4	Utvikling til kopepoditt-stadiet etter behandling med ulike avlusingsmetoder..	37
4.5	Muligheten for reinfeksjon.....	40
4.6	Videre forskning	42
5	Konklusjon.....	43
	Referanser	44
	Vedlegg	49
	Vedlegg A: Estimering av eggstørrelse	49
	Vedlegg B: Bakgrunnsdata for merdbehandlingene	52
	Vedlegg C: Figurer over eggstrenglengde.....	54

Figurer

- Figur 1: Utviklingsstadiene til *L.salmonis*. Livssyklusen består av åtte skallskifter med tre planktoniske (frittlevende; nauplie 1 og 2, kopepoditt), to fastsittende stadier (chalmus 1 og 2) og de tre bevegelige stadiene (Preadult 1 og 2, adult). Bilde fra: (Igboeli et al., 2014).....3
- Figur 2: Skisse av hovedkomponentene i SkaMik-avlusersystemet. Fisken kommer inn fra venstre, blir avsilt, spylt og børstet med forskjellige trykk for så og bli spylt en siste gang i etterspylingskammeret og ut i merda. Bilde fra: (Elvertrø og Westgård, 2021)5
- Figur 3: Skisse av Hydrolicer systemet. Fisken pumpes inn fra høyre side og blir telt i en fisketeller. Først er det en avsilingskasse som separerer fisk og prosessvann. Så blir de møtt av 2 enheter for hydroliceravlusning med lusfjernere og pumpe. Hver enhet har både avsuging og tilførsel av trykksatt. Lusa samles opp i et trommelfilter med størrelsen på 80 µm for å sikre at all lus fra alle stadier blir tatt ut. Bilde fra: (Erikson et al., 2018)6
- Figur 4: Optilicer med varmtvannsbad og to separate skovlejhjul. Skovlejhjulene skyver fisken gjennom et lite kar med oppvarmet sjøvann. Består av en oljebrenner som varmer opp vannet, behandlingskar, CO₂-utlufting og oksygenering. Vannet avsiles gjennom et trommelfilter som filterer ut lus og egg. Bilde fra: (Roth, 2016).....7
- Figur 5: Innsamling av materiale ble utført på oppdrettsanlegg i produksjonsområde 6 (Nordmøre og Sørlege-Trøndelag) og Produksjonsområde 7 (Nordlige Trøndelag med Bindal) Bilde fra: (Fiskeridirektoratet, 2020)9
- Figur 6: To ulike filter for oppsamling av lus under behandling. Til venstre: Trommelfilter (150 µm) på SkaMik som filtrerer ut lus og skjell fra vannet i et oppsamlingskar. Til høyre: Oppsamlingsfilter på Optilicer som filtrerer ut lus som faller på båndet og blir ført til et oppsamlingskar. Bilde fra: Mikael Furberg, 2021 11
- Figur 7: Bildetaking av eggstrenger innsamlet fra de ulike prøvetidspunktene i avlusingen. Eggstrengene ble plukket av hunnlusa og lupe ble brukt for å få gode bilder. Bilde fra: Anna Båtnes, 2021 12
- Figur 8: Resirkuleringsklekkeri anvendt i Rørvik. Det bestod av: A- Pumpe, B- Kjøler, C- Reservoar 1, D- Klekkerikasse med prøver, E- Utløpsrør og F- Reservoar 14
- Figur 9: Måling av eggstrenger ved hjelp av ImageJ versjon 1.53. Skala ble satt ut fra ruteskålen og eggstrenglengden målt i mm ved bruk av funksjonen Segmented line. I resultatboksen vises en lengde på 14,4 mm, Bilde fra: Mikael Furberg, 2021 16
- Figur 10: Telling av nauplier og kopepoditter ved hjelp av ImageJ versjon 1.53. Til venstre: bilde av nauplier i veieskip. Til høyre: bilde av hvordan tellinger av mobile nauplier ble utført i ImageJ ved hjelp av multi-point tool. Bilde fra: Mikael Furberg, 2021 17
- Figur 11: Boksplot (median med variasjon i kvartiler samt minimum og maksimum) over eggstrenglengde for FØR-prøvene ved avlusning med Hydrolicer (n=40), SkaMik (n=48) og Optilicer (n=66)..... 21

Figur 12: Boksplot (median med variasjon i kvartiler samt minimum og maksimum) over estimert eggstrenglengde (mm) for FØR-prøvene ved de ulike merdbehandlingene. Antall observasjoner n for de ulike boksplottene er varierende, n=6-14 (se Vedlegg B, Tabell B2).	22
Figur 13: Boksplot (median med variasjon i kvartiler samt minimum og maksimum) over klekkeprosent (prosent nauplier per totalt antall egg i eggstrengen) for FØR-prøvene for de ulike merdbehandlingene. Antall observasjoner n for de ulike boksplottene er varierende, n=1-13 (se Vedlegg B, Tabell B2).	23
Figur 14: Boksplot (median med variasjon i kvartiler samt minimum og maksimum) over klekkeprosent (prosent nauplier per totalt antall egg i eggstrengen) for de ulike behandlingstypene og prøvetidspunktene. Antall observasjoner n for de ulike boksplottene er vist i tabell 5.	25
Figur 15: Boksplot (median med variasjon i kvartiler samt minimum og maksimum) over kopepoditt-overlevelse (prosent aktive kopepoditter per totalt antall egg i eggstrengen) for de ulike behandlingstypene og prøvetidspunkt. Verdiene er basert på kopepoditt-overlevelse for eggstrengene som klekket. Antallet observasjoner som utgjør boksplottene er vist i Tabell 5.	26
Figur 16: Boksplot (median med variasjon i kvartiler samt minimum og maksimum) for antall aktive kopepoditter per eggstreng for de ulike behandlingstypene og prøvetidspunktene. Antall observasjoner n for de ulike boksplottene er vist i Tabell 5. ..	27
Figur 17: Boksplot (median med variasjon i kvartiler samt minimum og maksimum) for overlevelse fra nauplie til kopepoditt-stadiet per eggstreng (prosent aktive kopepoditter per totalt antall aktive nauplier fra eggstrengen). Verdier over 100 % kan skyldes at naupliene var immobile ved første telling og var blitt mobile når det ble foretatt kopepoditt-telling. Antall observasjoner n for de ulike boksplottene er vist i Tabell 5. ...	28
Figur 18: Median (barrene viser variasjon i kvartiler) antall aktive kopepoditter som kommer fra merdbehandling med de ulike behandlingstypene. Basert på antall fisk behandlet (Tabell 4), kjønnsmodne hunnlus som slippes ut fra de ulike merdbehandlingene (Tabell 3), andel kjønnsmodne hunnlus som har eggstrenger ved utløp av avlusingene og andel eggstrenger som klekker (Tabell 5). Beregningene og antall n observasjoner er gitt i Tabell 6.	30
Figur 19: Median (barrene viser variasjon i kvartiler) antall aktive kopepoditter per fisk som kommer fra merdbehandling med de ulike behandlingstypene. Beregningen er basert på antall fisk behandlet (Tabell 4), kjønnsmodne hunnlus som slippes ut fra de ulike merdbehandlingene (Tabell 3), andel kjønnsmodne hunnlus som har eggstrenger ved utløp av avlusingene og andel eggstrenger som klekker (Tabell 5). Beregningene og antall observasjoner n er gitt i Tabell 6.	31

Tabeller

Tabell 1: Oversikt over avlusingsoperasjoner fulgt opp under feltarbeidet med antall merdbehandlinger og avlusningstype. Hver merdbehandling har fått en egen ID laget for å sikre anonymisering av selskapene med merdnummer mellom 1-3 som tilsvarer hvor mange merder det ble hentet prøver fra. Arbeidet ble utført på 10 unike lokaliteter. 10

Tabell 2: Oversikt over innsamlede prøver fordelt på type avlusning og antall prøver (prøver: Ett eggstrengpar eller singel eggstreng fra en voksen hunnlus) innsamlet fra hvert av prøvetidspunktene..... 11

Tabell 3: Lusetall (Antall lus per fisk) før og etter behandling og effekt (prosentvis reduksjon av lus) ved de ulike behandlingene, fordelt på kategoriene fastsittende lus (F), bevegelig lus (B) og kjønnsmoden hunnlus (KH). Totaleffekten er prosentvis reduksjon av lus for alle lusestadiumene..... 19

Tabell 4: Bakgrunnsdata for merdbehandlingene. Behandlingstemperatur er oppgitt i °C mens spyletrykk er oppgitt i bar. Uketall er for 2021. 20

Tabell 5: Andel (%) av eggstrengene som klekket fordelt på prøvetidspunkt og type behandling. Nederst er antall observasjoner (eggstrenger som er hentet inn under feltarbeidet) som inngår i beregningene. 24

Tabell 6: Beregninger av antall aktive kopepoditter fra hver merdbehandling og antall aktive kopepoditter per fisk. Bakgrunn for beregningene var verdier i Tabell 3 (Kjønnsmoden hunnlus (KH) ved uttelling) og Tabell 5 (Andel eggstrenger som klekket). Gjennomsnittlig antall aktive kopepoditter per hunnlus er hentet fra innsamlet data. Antall lus som har eggstrenger er basert på data fra Antonsen (2021) som fant at 56 % av KH har eggstrenger etter behandling med Hydrolicer. 29

Forkortelser/begreper

F	Fastsittende lus (chalimus 1 og 2)
B	Bevegelige lus (preadult 1 og 2 samt voksen hann)
KH	Kjønnsmodne hunnlus
Klekkeprosent	Prosent nauplier per totalt antall egg i eggstrengen
Kopepoditt-overlevelse	Prosent aktive kopepoditter per totalt antall egg i eggstrengen
Nauplie til kopepoditt overlevelse	Prosent aktive kopepoditter per totalt antall aktive nauplier fra eggstrengen
Total avlusings-effekt	Prosentvis reduksjon av lus for alle lusestadier
ID	H - Hydrolicer, S – SkaMik og O – Optilicer
Lusetall	Antall lus per fisk

1 Introduksjon

1.1 Betydningen av lakselus for norsk akvakultur

Norsk akvakultur har hatt en god vekst både økonomisk og produksjonsmessig siden sin spede start på 1970-tallet. Norge produserer i dag cirka 1,5 millioner tonn atlantisk laks (*Salmo salar* Linnaeus, 1758) og grunnlaget for dette ligger i høy teknologisk utvikling samt mye forskning på de biologiske aspektene av oppdrettet. Dette har gjort at anleggene i dag består av store konstruksjoner med automatisk fôringsteknologi og flåter for observasjon og kontroll (Misund, 2021). Utviklingen har ført til at den norske oppdrettsnæringen begynte å avle frem stamfisk som skulle bidra til å gjøre fisken mer robuste og motstandsdyktige mot sykdommer (Robinson og Hayes, 2008). En økende lakseproduksjon har ført til at parasitten lakselus (*Lepeophtheirus salmonis* Krøyer, 1837) har fått et stort antall tilgjengelige verter til enhver tid og i tillegg kan lakselusen forflytte seg over store avstander i sjøen mellom anlegg (Skarðhamar *et al.*, 2018). Dette har resultert i at lakselusproblemet har økt (f.eks Jevne og Reitan, 2019; Overton *et al.*, 2018).

Den kraftige veksten i oppdrettsnæringen begynte senere å flate ut i produksjonsmengde, blant annet forårsaket av problemer med sykdommer, og spesielt lakselus (Dempster *et al.*, 2021). For å beskytte villaksen ble det innført reguleringer av produksjonsmengde i oppdrettsnæringen, ut fra lakselusens påvirkning i deres produksjonsområde (Johnsen *et al.*, 2020). Produksjonsområdene blir overvåket og de sonene som blir ansett for å ikke ha for høy påvirkning på villaksen får øke produksjonsmengden med 6 %, mens der påvirkningene blir for store blir produksjonsmengden senket med tilsvarende (Hersoug *et al.*, 2021). Dette har også påvirket produksjonskostnaden i lakseproduksjon med ulike tiltak for å bekjempe lakselus-problemet. I 2016 ble kostnader tilknyttet kontroll av lakselus estimert til rundt 5 mrd NOK (Iversen *et al.*, 2017).

Noen av de forebyggende tiltakene som brukes for lakseluskontroll i dag er luseskjørt som er en tett eller semi-permeabel duk festet rundt de øverste 5-10 meterne av merder for å hindre at lus kommer i nærheten av laksen for å feste seg, rensefisk som rognkjeks og berggyllt som brukes i merdene for å beite lus, og avling av stamfisk som er mer motstandsyktig mot lakselus (Jevne og Reitan, 2019; Barrett *et al.*, 2020). Det er også utviklet nye teknologier de siste årene for eksempel en laser som skyter lusen av laksen, lukkede merder som skaper en barriere mot miljøet for å slippe infestasjon av lakselus og offshore anlegg lengre ute i sjøen hvor vannstrøm og værforhold i utgangspunktet skal gi lavere lusenivå (Barrett *et al.*, 2020; Hvas *et al.*, 2020). Når lakselusbestanden i merdene når et visst nivå settes inn det større tiltak for å redusere lakselus-problemet.

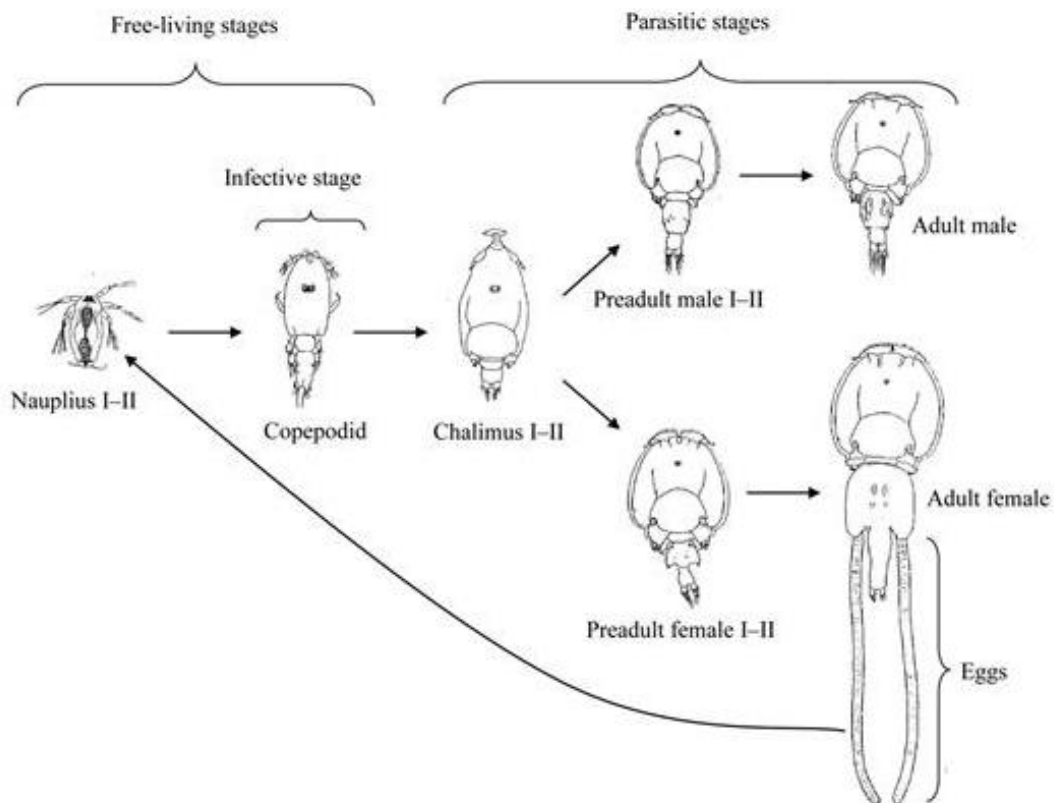
Nærings- og fiskeridepartementet har regulert dette til at det alltid skal være mindre enn 0,5 kjønnsmodne hunnlus per laks i anlegget (Forskrift om lakselusbekjempelse, 2013; Overton *et al.*, 2018). På grunn av økt motstandsdyktighet i lakselus mot medisinske behandlinger (Aaen *et al.*, 2015; Grøntvedt *et al.*, 2016) har retningen de senere årene gått mot andre ikke-medikamentelle avlusingsmetoder. De mest brukte metodene i dag er mekanisk behandling (f.eks. SkaMik og Hydrolicer) og termisk behandling (f.eks. Optilicer) (Walde *et al.*, 2021). Mekanisk avlusning foregår i hovedsak ved spyling med forskjellig trykk mens ved termisk behandling blir laksen utsatt for varmtvann på cirka. 28-34 °C i 30 sek for å få lusa til å slippe. (Jevne og Reitan, 2019; Østevik *et al.*, 2022). Disse behandlingsmetodene har høye kostnader og har stor innvirkning på økonomien for den norske oppdrettsnæringen, i tillegg til at det er utfordrende for velferden hos laksen (Iversen *et al.*, 2017). Dagens avlusingsmetoder har rapportert relativt høy effekt, men likevel kan oppblomstring av lakselus etter behandling skje raskt, spesielt i perioder hvor vanntemperaturen er høy (Jevne og Reitan, 2019).

1.2 *Lepeophtheirus salmonis* og dens livssyklus

Lakselus er en obligat ektoparasitt som angriper laksefisk i det marine miljø og representerer et velferdsmessig problem for laksen ved at den livnærer seg på laksens skinn og blod (Walde *et al.*, 2021). Dette kan skape irritasjon, store sår og i tillegg en nedsatt velferd i form av problemer med osmoregulering; reguleringen av saltbalansen hos fisken. Det gir stress hos laksen og gjøre den mer utsatt for sekundære virale eller bakterielle infeksjoner (Johnsen *et al.*, 2020; Overton *et al.*, 2018).

Livssyklusen til lakselus er gjennom 8 steg eller skallskifter (Figur 1) (Hamre *et al.*, 2013). Den består av tre planktoniske steg (nauplie 1 og 2, kopepoditt) der nauplie-stadiet til lusa svømmer med vannmassen og lever på den næringen de har fått meg seg fra egget (Hamre *et al.*, 2019). I kopepoditt-stadiet begynner lusa å utvikle en påslagsadferd og beveger seg mot vertene for å feste seg og fullføre livssyklusen (Schram, 1993). Naupliene og kopepodittene posisjonerer seg i vannmassene i forhold til lys, salinitet og temperatur (Hamre *et al.*, 2019; Szetey *et al.*, 2021). Chalimus 1 og 2 utgjør de fastsittende stadiene hvor lusa sitter fast på laksen ved hjelp av et frontalfilament og spiser av dens blod, skinn og slim (Schram, 1993). I det fastsittende stadiet er ofte lusa lokalisert på undersiden og halefinnen hos laksen mens den etter skallskifte til de bevegelige stadiene (Preadult 1 og 2, adult) mister frontalfilamentet og begynner å bevege seg rundt på laksen (Bui *et al.*, 2020; Hamre *et al.*, 2019; Jevne og Reitan, 2019). Det er også en størrelsesforskjell mellom det fastsittende stadiet hvor Chalimus 2 er 2,3 mm og bevegelige stadiet hvor Preadult 1 er 3,6 mm (Schram, 1993). Siste stadium i livssyklusen til lakselus er voksen hunnlus og hannlus, hvor hunnlusa er større enn hannlusa (Schram, 1993). Den kjønnsmodne hunnlusa er det stadiet den

norske reguleringen (Forskrift om lakselusbekjempelse, 2013) er basert på fordi det er disse som direkte virker på det videre smittepotensialet. Den produserer 2 eggstrenger som kan inneholde opp mot 700 egg hver, som vil si at en kjønnsmoden hunn lus kan ved klekking slippe ut opp til 1400 nauplier i vannet (Hamre *et al.*, 2019). Lengden på eggstrengene er funnet å være avhengig av antall egg og eggstørrelse som er sterkt korrelert med sjøtemperaturen og lengden har blitt målt til $15 \pm 1,5$ mm ved en temperatur på 15°C (Samsing *et al.*, 2016). To andre studier fant en gjennomsnittlig eggstrenglengde på $19,4 \pm 4,21$ mm ved 10°C og 18 mm ved $7,2^{\circ}\text{C}$ (Eisenhauer *et al.*, 2020; Heuch *et al.*, 2000). Eggstørrelsen blir også påvirket av temperatur og er funnet større ved økende temperaturer (Heuch *et al.*, 2000). I en artikkel av (Samsing *et al.*, 2016) ble den gjennomsnittlig eggstørrelsen målt til $62 \pm 0,8$ μm ved temperatur mellom 3 og 20°C , med den største eggstørrelsen på 3°C ($68 \pm 0,9$ μm) og 20°C ($67 \pm 1,3$ μm).



Figur 1: Utviklingsstadiene til *L. salmonis*. Livssyklusen består av åtte skallskifter med tre planktoniske (frittlevende; nauplie 1 og 2, copepoditt), to fastsittende stadier (chalimus 1 og 2) og de tre bevegelige stadiene (Preadult 1 og 2, adult). Bilde fra: (Igboeli *et al.*, 2014)

Smittepotensialet til lakselus er avhengig av flere faktorer. Temperatur er en viktig faktor fordi utviklingen i livssyklusen til lakselusen skjer raskere ved høyere temperaturer og gir dermed problemer gjennom de varmere månedene (Jevne og Reitan, 2019). Temperatur har også betydning for klekkesuksessen og eggstørrelsen for den kjønnsmodne hunnlusa. Ved høyere temperaturer (10-20 °C) er det funnet en klekkesuksess på mellom 87-100% mens ved 3 °C er klekkesuksessen kraftig redusert til rundt 28 % (Samsing *et al.*, 2016).

1.3 Mekanisk og termisk avlusing

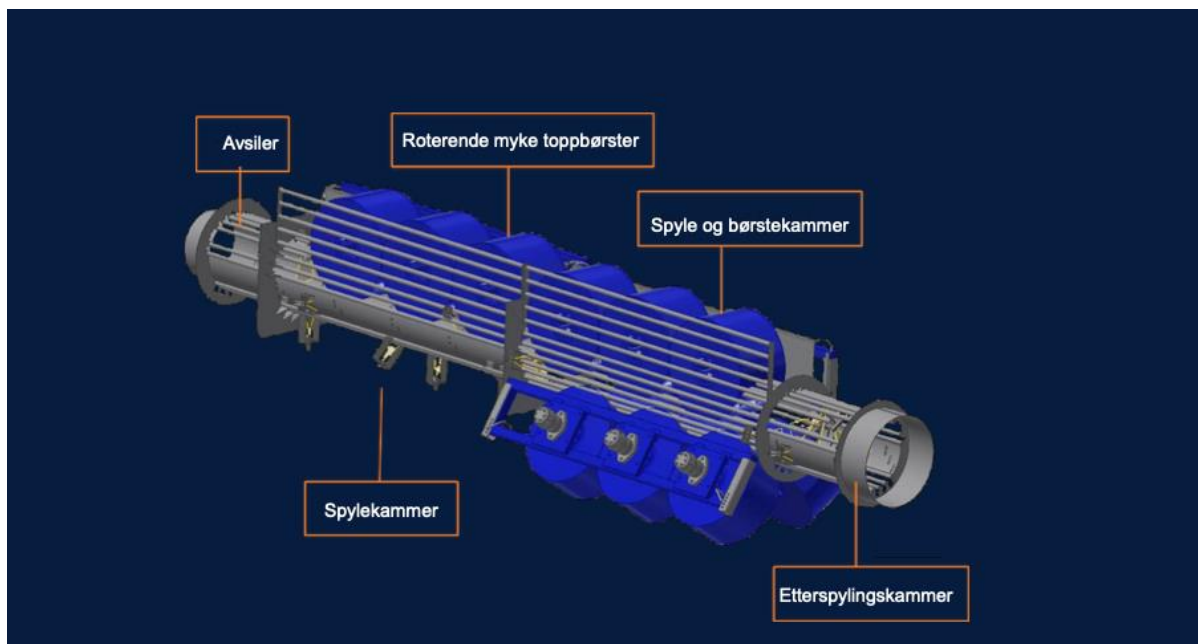
En grense på færre enn gjennomsnittlig 0,5 kjønnsmodne hunnlus per fisk er satt, som betyr at før denne grensen overskrides må tiltak iverksettes. (Forskrift om lakselusbekjempelse, 2013). De metodene som anvendes i dag er i størst grad mekaniske og termiske avlusingsmetoder (Overton *et al.*, 2018; Walde *et al.*, 2021). To av de mekaniske behandlingene som anvendes betegnes SkaMik og Hydrolicer og en av de termiske behandlingene betegnes Optilicer.

1.3.1 SkaMik og Hydrolicer

Både SkaMik og Hydrolicer foregår i hovedsak ved at fisken blir trengt (samlet opp mot pumpene ved hjelp av orkastnot eller kulerekke (Nersten *et al.*, 2021); brukes ofte ved store operasjoner i oppdrettsnæringen) og pumpet inn i et lukket system hvor lusa spyles av og samles opp i et filter (Jevne og Reitan, 2019; Overton *et al.*, 2018). Forskjellen mellom disse to metodene går mest på teknologien på hvordan lusa samles opp i ulike rørsystem og i tillegg til kapasiteten til systemene som beskrives i detalj nedenfor.

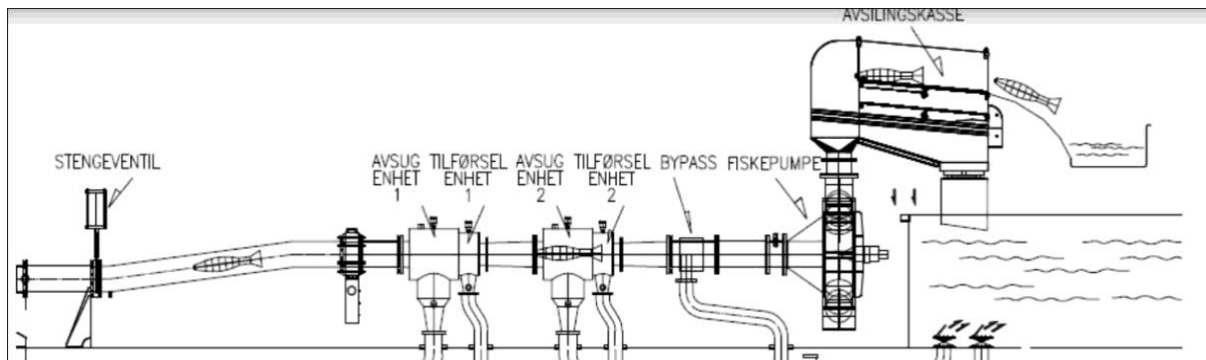
SkaMik er en avlusingsmetode som til forskjell fra Hydrolicer bruker både børsting og spyling til å fjerne lusa fra laksen (Figur 2) (SkaMik AS, 2021; Westgård *et al.*, 2021). Fisken blir trengt opp, enten ved hjelp av kulerekke eller orkastnot, mot pumpesystemet for så å bli pumpet inn (Nersten *et al.*, 2021). Fisken går gjennom en rekke stasjoner som inkluderer et avsilingskammer, et spylekammer hvor de blir spylt med forskjellig trykk ut fra erfaringer og situasjonen, et børstekammer med roterende børster og et etterspylingskammer for å sikre en god effekt på lusa (Figur 2; Elvertrø og Westgård, 2021). Hele prosessen for den enkelte fisken tar relativt kort tid, 15 sekunder, før den er pumpet tilbake til merda. Selve spylingen og børstingen tar rundt 1,5 sekund (SkaMik AS, 2021; Westgård *et al.*, 2021). Lus og andre rester fra avlusingen blir silt ut i egne filtre og samlet opp for destruering. I senere tid har produsentene av SkaMik hevdet at børstene ikke brukes direkte for å fjerne lusa fra laksen, men heller å styre laksens bevegelser gjennom systemet (Overton *et al.*, 2018).

Det finnes få vitenskapelige artikler om avlusningseffekten ved SkaMik. Produsentene av SkaMik oppgir selv en effekt på cirka. 95 % for bevegelige lus og 100 % for kjønnsmoden lus ved fullskalaforsøk og ordinær drift (SkaMik AS, 2021). Et småskala forsøk med SkaMik behandling beskrevet av Westgård et al. (2021) utført på 4 lokaliteter viste en stor variasjon i effekt. Dårligst effekt var på fastsittende lus, mellom 63-67 %, god effekt på 90-100 % ble funnet på bevegelig lus mens effekten på kjønnsmoden lus varierte fra 50 til 100 %.



Figur 2: Skisse av hovedkomponentene i SkaMik-avlusersystemet. Fisken kommer inn fra venstre, blir avsilt, spylt og børstet med forskjellige trykk for så og bli spylt en siste gang i etterspylingskammeret og ut i merda. Bilde fra: (Elvertrø og Westgård, 2021)

Hydrolicer er en mekanisk avlusingsmetode som brukes mye i dagens oppdrettsnæring (Antonsen, 2021). I hovedsak fjernes lusa fra laksen ved hjelp av spyling på samme måte som for SkaMik, men det er noen forskjeller ved teknologien. Hydrolicer skaper en turbulens i vannet i systemet med hjelp av enheter for avsug og tilførsel av vann (Figur 3; Erikson et al., 2018) som gjør at lusa mister vakuemet sitt og letter litt fra skinnet til laksen sånn at det blir enklere å spyle den av (Erikson et al., 2018). Turbulensen blir skapt av under- og overtrykk i det lukkede rørsystemet som gjør at turbulent vannstrøm går motsatt vei i røret. Prosessen foregår under lavt trykk, både over- og undertrykk, på grunn av forsiktig pumping og instillingene på pumpene nært vannsøylen (Erikson et al., 2018; Smir, 2021). Lusa blir fjernet fra pumpesystemet gjennom avsiler og samles opp i et filter avskilt fra pumpene. I tillegg er det et trommelfilter i enden av systemet for å samle opp siste rest av lus samt skjell fra fisken. En viktig faktor for effektivitet er prosessen med trengingen av fisken, det er ønskelig at det til enhver tid er nok fisk foran pumpene, men samtidig må fiskevelferden tas hensyn til (Erikson et al., 2018).



Figur 3: Skisse av Hydrolicer systemet. Fisken pumpes inn fra høyre side og blir telt i en fisketeller. Først er det en avsilingskasse som separerer fisk og prosessvann. Så blir de møtt av 2 enheter for hydroliceravlusning med lusfjernere og pumpe. Hver enhet har både avsuging og tilførsel av trykksatt. Lusa samles opp i et trommelfilter med størrelsen på 80 µm for å sikre at all lus fra alle stadier blir tatt ut. Bilde fra: (Erikson et al., 2018)

For Hydrolicer finnes det også få vitenskapelige artikler som beskriver effektiviteten av behandlingen. Det er rapportert om en effekt på 73-83 % på fastsittende lus, 79-95 % på bevegelige lus og 55-92 % på kjønnsmodne lus (Erikson et al., 2018). Overton et al., 2018 hevder at en representant fra Hydrolicer i 2017 beskrev en effekt på 82-100 % for bevegelige lus og 70-85 % for kjønnsmoden lus.

1.3.2 Optilicer

I 2021 utgjorde Optilicer 55 % av alle medikamentfrie avlusingsoperasjoner med hele 1453 behandlinger i Norge (Sommerset et al., 2022). Dette er en avlusingsmetode som eksponerer fisk og lus for oppvarmet sjøvann på 28-34 °C i 20-30 sekunder (Holan et al., 2017). Fisken blir pumpet opp ved trenging av merd og avsilt fra sjøvannet. Den blir så overført til et stort bad med varmtvann ved hjelp av skovlehjul, som kontrollerer eksponeringstiden, før den igjen avsiles og føres tilbake til merden (Figur 4; Roth, 2016). Lusa blir filtrert ut ved hjelp av et trommelfilter som skiller ut lus og skjell fra avlusingsvannet og samles i et oppsamlingskar. Det er antatt at lusa faller av fisken fordi varmtvannet varmer opp lusa raskt og lammer musklene slik at den mister sine sugeegenskaper og mister festet til huden til laksen (Holan et al., 2017; Roth, 2016). Mattilsynet har rettet spørsmål om hvorvidt stresset med varmtvannsbehandling er for høye til å være tillatt og har antydnet en mulig utfasing av slike avlusingsbehandlinger om noen år (Roth, 2016). Vitenskapelige artikler har advart mot at den varmtvannsbehandlingen som brukes i dag har negativ effekt på velferden til fisken (Stien et al., 2022; Nilsson et al., 2019) med økt stressrespons, påvirker øynene og øker dødeligheten for utsatt fisk. Det ble konkludert med at temperaturer over 28 °C som er vanlig å anvende kan føre til akutt stress for laksen og kan gi smerteresponser selv ved korte eksponeringstider (Stien et al., 2022).



Figur 4: Optilicer med varmtvannsbad og to separate skovlehjul. Skovlejhjulene skyver fisken gjennom et lite kar med oppvarmet sjøvann. Består av en oljebrenner som varmer opp vannet, behandlingskar, CO₂-utlufting og oksygenering. Vannet avsiles gjennom et trommelfilter som filterer ut lus og egg. Bilde fra: (Roth, 2016)

Avlusningseffekten med Optilicer virker å være sterkt korrelert med sjøtemperaturen under behandlingen, hvor temperaturredifferansen (Δt ; forskjellen på sjøtemperaturen og behandlingstemperaturen) i prosessen synes å ha stor betydning for effekten (Holan *et al.*, 2017). Ved lavere temperaturer kan man få god effekt av behandlingen ved den laveste selv ved 28 °C, opp til 98 % på bevegelig lus. Om sommeren har lavere effekt blitt observert ved avlusning med den samme behandlingstemperaturen og derfor brukes høyere temperaturer ved varmtvannsbehandling om sommeren (Holan *et al.*, 2017; Roth, 2016). Det er også beskrevet en effekt av behandling på mellom 75-100 % på bevegelige lus. Lite informasjon er tilgjengelig om effekten på fastsittende og kjønnsmodne lus (Grøntvedt *et al.*, 2015).

Mattilsynet har rettet spørsmål om hvorvidt stresset med varmtvannsbehandling er for høye til å være tillatt og har antydnet en mulig utfasing av slike avlusingsbehandlinger om noen år (Roth, 2016). Vitenskapelige artikler har advart mot at den varmtvannsbehandlingen som brukes i dag har negativ effekt på velferden til fisken (Stien *et al.*, 2022; Nilsson *et al.*, 2019) med økt stressrespons, påvirker øynene og øker dødeligheten for utsatt fisk. Det ble konkludert med at temperaturer over 28 °C som er vanlig å anvende kan føre til akutt stress for laksen og kan gi smerteresponser selv ved korte eksponeringstider (Stien *et al.*, 2022).

1.4 Smittepotensial etter avlusing

Avlusingsoperasjoner har vist seg å ikke være 100 % effektiv. Dette betyr at noe lus kommer tilbake til merdene og utgjør en risiko for videre smittepotensial i ulik grad. Gjennom en produksjonssyklus går laksen gjerne gjennom flere behandlinger. En studie har funnet at antallet avlusingsoperasjoner normalt var tre per fiskegruppe gjennom produksjonssyklus og at det tok 28-31 dager mellom hver behandling (Walde *et al.*, 2021). En annen rapport har beskrevet et antall på cirka 6 behandlinger gjennom en produksjonssyklus for hver fiskegruppe (Østevik *et al.*, 2022). Dette viser at laksen går gjennom produksjonen med mange håndteringer og stresspåvirkning og effekten av dette vites det lite om (Østevik *et al.*, 2022). Hvor ofte en må avluse er avhengig av mange faktorer som temperatur, vannstrøm, tilstanden til fisken og effekten av avlusingsoperasjonene (Dempster *et al.*, 2021).

Siden noe kjønnsmodne hunnlus med eggstrenger vil komme ut fra en behandling vil dette kunne føre til reinfeksjon i løpet av kort tid. Med en utviklingshastighet fra klekking til kopepoditt-stadie på 3-4 dager ved 10-12 °C (Hamre *et al.*, 2019) vil det kunne resultere i høy infeksjon igjen bare noen dager etter. Få vitenskapelige artikler har omtalt og kvantifisert det direkte smittepotensialet etter behandling.

1.5 Mål

Målet for oppgaven var å undersøke og sammenligne smittepotensialet av lakselus-larver som klekker fra eggstrenger som har vært gjennom mekaniske og termiske avlusningsbehandlinger. Behandlingstypene som er vurdert er Hydrolicer, SkaMik og Optilicer.

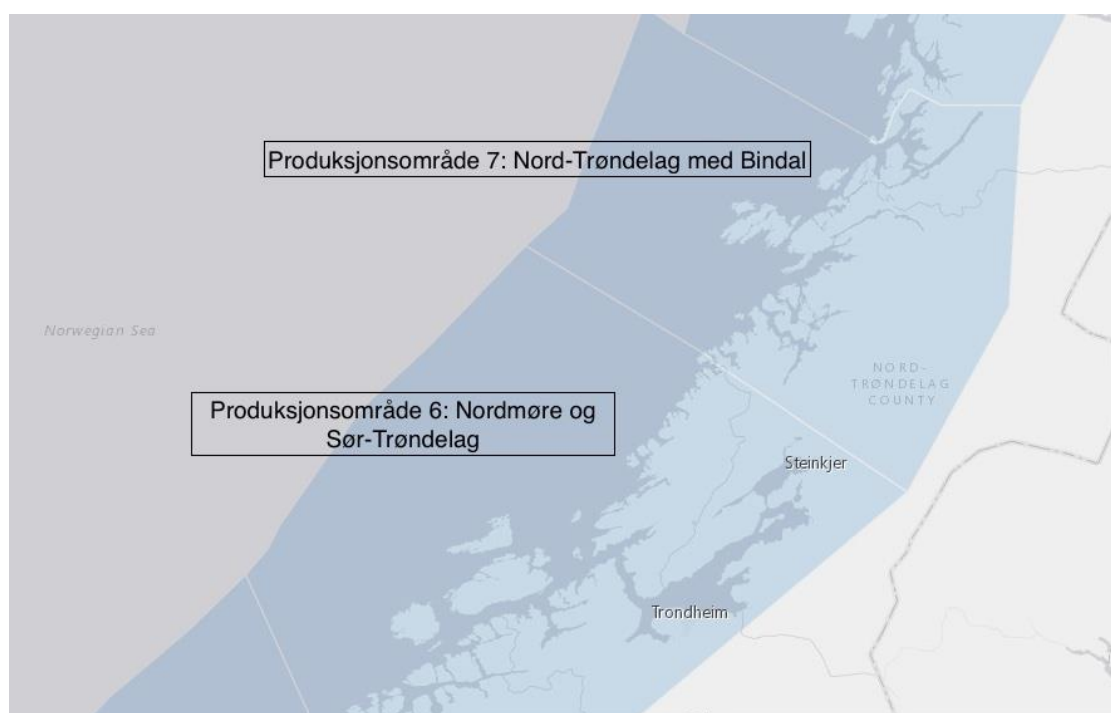
Delmål var:

1. Beskrive generell klekkesuksess og overlevelse av kopepoditt-stadiet for eggstrenger FØR, FILTER (samlet opp i filter under behandling) og ETTER de ulike behandlingene
2. Sammenlikne de ulike behandlingstypene med hensyn til klekkesuksess og overlevelse av kopepoditt-stadiet
3. Gi en vurdering av mulig smittepotensial etter behandling for de ulike behandlingstypene

2 Metode

2.1 Feltområde

Feltarbeidet ble utført på ulike lokaliteter langs Trøndelagskysten og Nordmøre. Fra 21. september til 5. oktober 2021 (første runde og andre runde) ble innsamlingen av eggstrenger utført ved flere lokaliteter i Rørvik-området (Produksjonsområde 7; Figur 5). Fra 27. oktober til 1. desember (tredje runde) ble eggstrenger samlet inn fra lokaliteter på Hitra og Frøya samt i Kristiansund-området og Smøla (Produksjonsområde 6; Figur 5).



Figur 5: Innsamling av materiale ble utført på oppdrettsanlegg i produksjonsområde 6 (Nordmøre og Sør-Trøndelag) og Produksjonsområde 7 (Nordlige Trøndelag med Bindal) Bilde fra: (Fiskeridirektoratet, 2020)

Det ble samlet inn prøver fra 11 avlusingsoperasjoner, der 21 merder fra totalt 10 unike lokaliteter ble behandlet (Tabell 1). Avlusingsoperasjonene vil videre bli beskrevet med ID med H for Hydrolicer, O for Optilicer og S for SkaMik i tillegg til merdnummer mellom 1-3.

Tabell 1: Oversikt over avlusingsoperasjoner fulgt opp under feltarbeidet med antall merdbehandlinger og avlusningstype. Hver merdbehandling har fått en egen ID laget for å sikre anonymisering av selskapene med merdnummer mellom 1-3 som tilsvarer hvor mange merder det ble hentet prøver fra. Arbeidet ble utført på 10 unike lokaliteter.

Avlusing	Uke	Antall merd-behandlinger	Type avlusing	ID
1	Uke 38	2	Optilicer	O1M1, O1M2
2	Uke 38	2	SkaMik	S1M1, S1M2
3	Uke 38	6	Optilicer	O2M1*
4	Uke 38	1	Optilicer	O3M1
5	Uke 40	1	Optilicer	O4M1
6	Uke 40	1	Optilicer	O5M1
7	Uke 43	2	SkaMik	S2M1, S2M2
8	Uke 44	3	Hydrolicer	H1M1, H1M2, H1M3
9	Uke 46	1	SkaMik	S3M1
10	Uke 47	1	Optilicer	O6M1
11	Uke 48	1	Hydrolicer	H2M1

*Ble behandlet som 1 merd på grunn av at avlusningsoperasjonen ble utført på 90-metringer (merder med en omkrets på 90 meter) slik at mengde fisk behandlet og tid brukt på de 6 merdene var omtrent som i ei vanlig merd.

2.2 Innsamling av eggstrenger

2.2.1 Materiale

For hver merdbehandling ble det samlet inn prøver fra tre tidspunkter i løpet av behandlingen; eggstrenger fra lakselus samlet inn fra laks før behandling («FØR»-prøver), eggstrenger fra lus som falt av under behandling og som ble samlet opp i filteret på behandlingsfartøyet («FILTER»-prøver), og eggstrenger fra lus som holdt seg på fisken gjennom hele behandlingen og var på vei ut tilbake til merda («ETTER»-prøver).

En prøve er eggstrenger fra en voksen hunnlus, enten ett eggstrengpar eller en enkel eggstreng. Det ble samlet inn eggstrenger fra opptil 10 lus ved hvert prøvetidspunkt; enten eggstrengpar eller single eggstrenger. Den totale datainnsamlingen ga 400 unike prøver (eggstrengpar eller singel eggstreng; Tabell 2).

Tabell 2: Oversikt over innsamlede prøver fordelt på type avlusing og antall prøver (prøver: Ett eggstrengpar eller singel eggstreng fra en voksen hunn lus) innsamlet fra hvert av prøvetidspunktene.

Avlusingstype	Merdbehandlinger	FØR-prøver	FILTER-prøver	ETTER-prøver	Totalt antall prøver
Hydrolicer	4	40	36	22	98
SkaMik	5	49	59	37	145
Optilicer	7	66	43	48	157
TOTAL	16	155	138	107	400

FØR-prøvene ble tatt ved inntelling på anlegget, noe som vanligvis gjøres før en avlusing for å kunne måle effekten av behandlingen og gjøre endringer fortløpende. Under trenging ble fisk håvet opp og anestesert med Benzoak vet. Det ble tatt ut 20 fisk ved inntelling, men det ble også håvet ekstra fisk om målet på 10 eggstrengpar ikke ble nådd.

FILTER-prøvene ble tatt fra filterne i avlusningssystemet (Figur 6) som de ulike avlusingsfartøyene brukte der alt av lus samt skjell og annen utslipp fra behandlingen ble fanget opp. Disse FILTER-prøvene besto av både ubehandlet lus fra avsilingsystemet og behandlet lus fra selve avlusingen. I filterne kunne det samles opp mye lus, men de 10 første observerte eggstrengparene ble samlet inn for å sikre randomisering av utvalget.



Figur 6: To ulike filter for oppsamling av lus under behandling. Til venstre: Trommelfilter (150 µm) på SkaMik som filtrerer ut lus og skjell fra vannet i et oppsamlingskar. Til høyre: Oppsamlingsfilter på Optilicer som filtrerer ut lus som faller på båndet og blir ført til et oppsamlingskar. Bilde fra: Mikael Furberg, 2021

ETTER-prøvene ble innhentet på utløpssiden av avlusingssystemet, der det normalt utføres lusetelling for å undersøke avlusingseffekten. Her ble også fisken samlet inn med håv fra en tilfeldig brønn eller linje i avlusingen, anestesert og undersøkt for lus. Det ble ofte håvet mer enn 20 fisk for å sikre tilstrekkelig antall etterprøver, da det viste seg å være vanskelig ved noen avlusinger å få ut prøver fra dette tidspunktet i behandlingen på grunn av relativt høy avlusingseffekt.

2.2.2 Behandling av materiale ved innsamling

Ved innsamling ble det brukt pinsett for å forsiktig dra den kjønnsmodne hunnlusa fra laksen, og overføre den til 50 mL sentrifugerør (Falcon polypropylene conical tubes) med sjøvann. Deretter ble hunnlusa tatt inn i et rom på avlusingsfartøyet, der eggstrengene ble skilt fra hunnlusa ved bruk av pinsett for å «hekte» de av kroken de henger på. Hver enkel eggstreng ble fotografert for å muliggjøre lengdemålinger og estimering av antall egg (Figur 7). Bildene ble tatt ved bruk av stereolupe (Heerbrugg Wild M3C), mobilholder (Celestron NexYZ 3; Figur 7) og mobilkamera. Ulike mobiltelefoner ble benyttet gjennom feltperioden. Eggstrengene ble lagt tilbake i samme sentrifugerør og ble transportert fra anlegget til klekkeriet i en lukket boks med filtrert sjøvann (Figur 7), holdt kjølig (ved hjelp av flere vannutskiftninger med sjøtemperatur på 10-12 °C) og inkubert i klekkeriet samme dag eller dagen etter de ble innhentet.



Figur 7: Bildetaking av eggstrenger innsamlet fra de ulike prøvetidspunktene i avlusingen. Eggstrengene ble plukket av hunnlusa og lupe ble brukt for å få gode bilder. Bilde fra: Anna Båtnes, 2021

2.3 Klekkeri

2.3.1 Resirkuleringsklekkeri

For å muliggjøre et fungerende klekkeri i feltlaboratoriet (Aquakompetanse sine lokaler i Rørvik) uten sjøvannsinntak og temperaturkontroll, ble det utviklet et resirkuleringsklekkeri (Figur 8).

Klekkeriet bestod av en pumpe (Figur 8 A) som pumpet vannet fra reservoar 2 (F) på gulvet videre inn i en kjøler (B) som holdt temperaturen stabil på $12,3 \pm 0,4$ °C (gjennomsnitt $\pm$ SD). Videre ble vannet pumpet opp til et reservoar på toppen av klekkeriet (C) der vannet gikk videre til klekkerikassene (D) ved hjelp av et naturlig fall og trykk. Vannet gikk først gjennom 12 mm rør fra reservoar 1 (C), videre til 2 rør på 8 mm på hver sin side av kassene som igjen delte seg i 2 rør på 4mm, som ga 4 innløp i hver av kassene, 2 på hver side. Gjennomstrømmingen i klekkeriet var på 4-6 dl/min/kasse (3,6-5,4 ml/min i hvert inkubatorrør) og ble bestemt av høyden på reservoaret (C) og dimensjoner i slangene. Videre gikk vannet fra kassene ned i et avløp til reservoaret på gulvet (F) før prosessen begynte på nytt. Det gikk også et overløp fra reservoar C til reservoar F for å sikre et stabilt vannivå. Kassene i klekkeriet var koblet til individuelt og derfor var antallet i bruk justerbart.

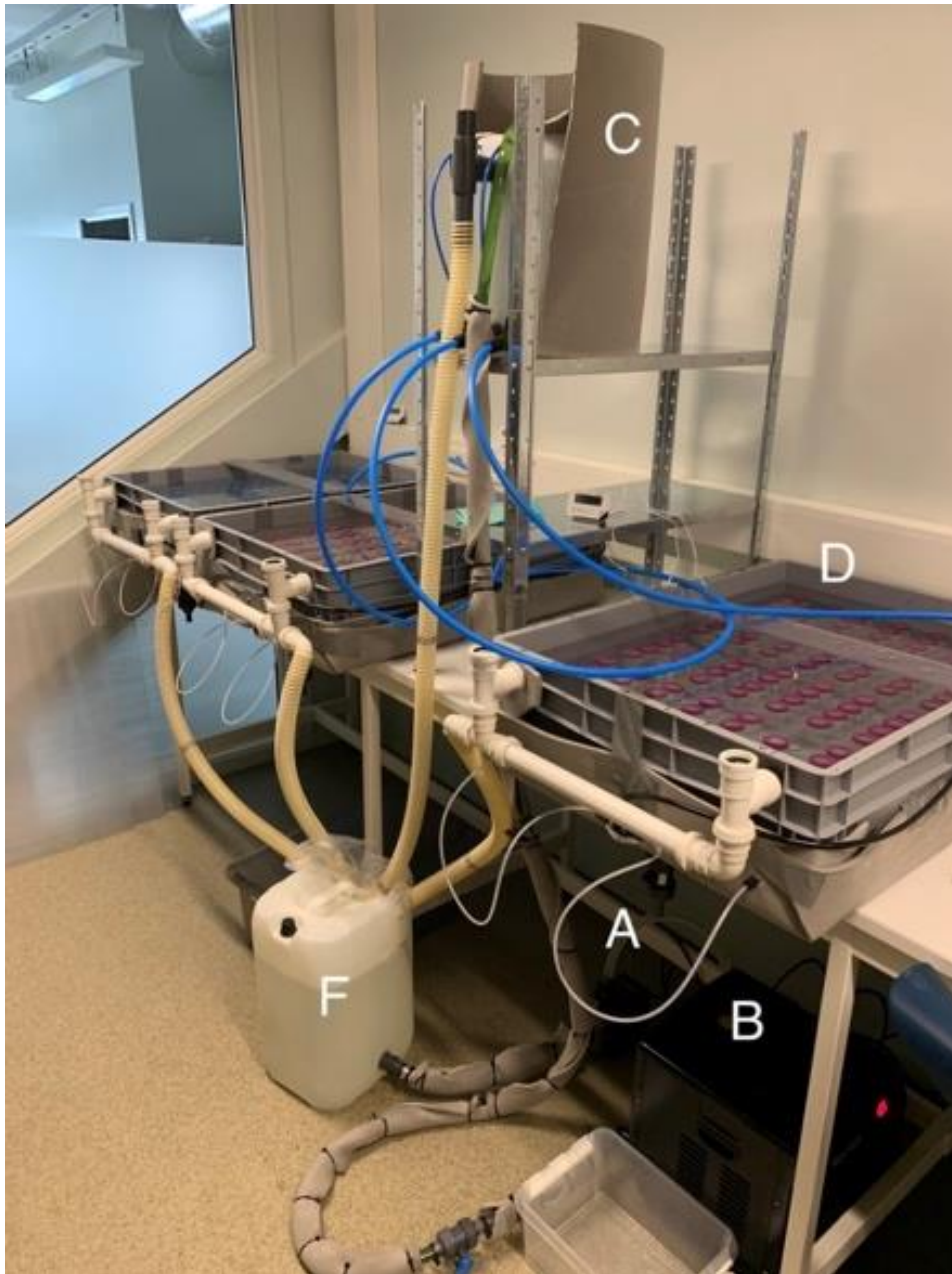
Alle delene av klekkeriet ble isolert for å sikre minimalt med temperaturpåvirkning fra rommet. Termometere var kontinuerlig tilkoblet for å overvåke vanntemperatur, og temperatur ble loggført 1-2 ganger per dag.

Resirkuleringsklekkeriet bestod av 3 kasser (dimensjon: 60x80cm) med plexiglassplater (1cm akryl) med plass til totalt 336 individuelle inkubatorrør med eggstrenger. Disse sentrifugerørene (50 mL Falcon polypropylene conical tubes) var kuttet i bunnen og sveiset på planktonduk (150 μ m). Det ble lagd hull i lokkene til sentrifugerørene som ble dekket av planktonduk (150 μ m) for å sikre god gjennomstrømming av vann.

Første gang klekkeriet ble fylt med vann ble sjøvannet hentet og filtrert (1 μ m) på brygga ved Nærøysund rorbuer. Dette er en liten bukt med begrenset gjennomstrømming og med en saltholdighet på cirka 30 ‰. I første runde ble det innhentet eggstrenger fra 3 lokaliteter og klekkeriet virket å fungere godt da det ble observert god klekking. Da larvene igjen skulle telles på dag 4 når de skulle ha utviklet seg til kopepoditter ble det oppdaget at alt i klekkeriet var døde nauplier. Tiltak måtte gjøres, og klekkeriet ble vasket og rensset i ferskvann. Det er vanskelig å si nøyaktig hva

som var grunnen til at de ikke utviklet seg til kopepoditter, men sjøvannets kvalitet og manglende vannutskifting kan ha påvirket dette.

Ved andre runde ble sjøvann hentet lengre ute i fjorden, et stykke utenfor Rørvik, ved Risværfjorden som sikret renere vann. For å sikre tilfredsstillende vannutskifting ble det skiftet ut 20 l sjøvann i døgnet. Total mengde sjøvann i systemet ved andre runde var 250 l og klekkeriet ble redusert til 2 kasser.



Figur 8: Resirkuleringsklekkeri anvendt i Rørvik. Det bestod av: A- Pumpe, B- Kjøler, C- Reservoar 1, D- Klekkerikasse med prøver, E- Utløpsrør og F- Reservoar

2.3.2 Gjennomstrømmingsklekkeri

I siste runde ble feltklekkeriet installert på laboratorie ved NTNU Sealab, Trondheim. Laboratoriet hadde sjøvannsuttak og det ble dermed installert som et gjennomstrømmingsklekkeri og det ble benyttet 2 kasser. Det ble brukt reservoar (Figur 8 C) og direkte utløp. Flowen ble holdt på det samme som ved resirkuleringsklekkeriet, omtrent 4-6 dl/min/kasse (3,6-5,4 ml/min i hvert inkubatorrør). Den gjennomsnittlige ($\pm$ SD) inkuberingstemperaturen i gjennomstrømmingsklekkeriet var $11,6 \pm 0,1$ °C.

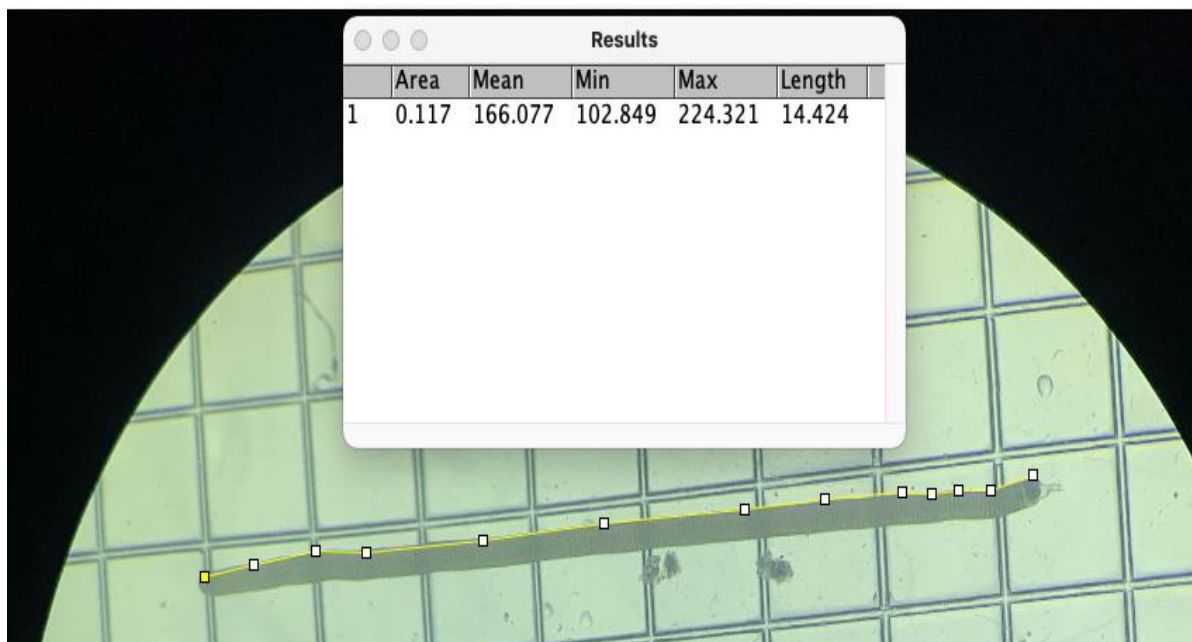
2.3.3 Inkubering av eggstrenger

Eggstrenger fra individuelle hunnlus (par eller singel eggstreng) ble tildelt en ID og inkubert i individuelle inkubatorrør med randomisert plassering i klekkeriet. Ved overføring fra feltkasser til klekkeriet ble det skånsomt brukt pinsett for å føre eggstrengene over fra feltrørene til inkubatorrørene. Eggstrengene ble sjekket for klekking daglig og nauplie telling ble utført senest 24 timer etter fullført klekking.

2.4 Estimering av egg i eggstrenger og telling av nauplier og kopepoditter

2.4.1 Estimering av antall egg i eggstrenger

Programmet ImageJ (Schneider *et al.*, 2012, versjon 1.53) ble anvendt for å måle eggstørrelsen og estimere antall egg i eggstrengene. Det ble først satt en skala ved hjelp av mm-papir, ruteskål med kjent størrelse eller gjenkjennbare objekter i bildet som ble brukt ved billedtaking ute i felt. Dette ble gjort fordi det ble brukt forskjellige innstillinger og ulike mobiltelefoner på de forskjellige avlusingene. Lengden (mm) til eggstrengene ble målt med funksjonen Segmented line (Figur 9), og eggstrenglengden ble brukt til å estimere antall egg i eggstrengen.



Figur 9: Måling av eggstrenger ved hjelp av ImageJ versjon 1.53. Skala ble satt ut fra ruteskålen og eggstrenglengden målt i mm ved bruk av funksjonen Segmented line. I resultatboksen vises en lengde på 14,4 mm, Bilde fra: Mikael Furberg, 2021

Eggstørrelsen ble målt for å kunne estimere antall egg i eggstrengene. Lengden av 30 egg ble målt på 4 ulike områder av eggstrengene, noe som ga grunnlag for estimering av eggstørrelse ($\mu\text{m}/\text{egg}$). Målingene ble utført på 10 eggstrengpar (Vedlegg A, Tabell A1). Forskjellene i eggstørrelse innad i eggstrengene og mellom eggstrengpar ble undersøkt og vurdert (Vedlegg A, Tabell A2). Beregningene ga en gjennomsnittlig eggstørrelse på $56,9 \mu\text{m}/\text{egg}$ totalt for alle 10 eggstrengparene (standardavvik $2,23 \mu\text{m}/\text{egg}$ og variasjonskoeffisient på $3,92 \%$; Vedlegg A, Tabell A2).

Det ble også undersøkt om det estimerte antallet egg i en eggstreng var forskjellig om man brukte gjennomsnittlig eggstørrelse for det enkelte eggstrengparet, sammenliknet med et generelt gjennomsnitt for 10 eggstrenger. Variasjonen ble funnet til å være fra $-2,80$ til $2,59 \%$ som ble vurdert som tilfredsstillende (Vedlegg A, Tabell A3) og gjennomsnittlig eggstørrelse ($56,9 \mu\text{m}/\text{egg}$) ble derfor brukt til å estimere antall egg i alle eggstrenger.

2.4.2 Telling av nauplier og kopepoditter

Etter klekking ble naupliene observert og kategorisert som mobile eller immobile. Det ble brukt pipette for å ta opp naupliene fra inkubatorrørene og naupliene ble observert i veieskip og eventuelt stimulert (mekanisk med pipettespiss eller ved vibrasjon i vannet) slik at de bedre kunne kategoriseres som mobil eller immobil. Naupliene ble kategorisert som immobile hvis det ikke ble observert noe bevegelse eller reaksjon på stimuli. Å vurdere om de var mobile eller immobile kunne være vanskelig fordi mange nauplier hadde et lavt aktivitetsnivå, men deltakerne i forsøkene samarbeidet for å koordinere sine vurderinger og dermed minimere feilkilder. Mobile og immobile nauplier ble fordelt i hvite veieskip (Figur 10) og tatt bilde av for telling i etterkant. Et antall på maks cirka 200 lus per veieskip ble valgt for å gjøre det enklest mulig å telle individene i etterkant. Naupliene ble deretter lagt tilbake i samme inkubatorrør i klekkeriet.

Temperaturen eggstrengene ble inkubert i var $12,3 \pm 0,4$ °C. De er da forventet å nå kopepoditt-stadiet etter cirka 4 dager (Hamre *et al.*, 2019). Prøvene ble derfor talt igjen mellom dag 4 og 6 etter klekking. For å være sikker på at de hadde utviklet seg til kopepoditter ble de undersøkt i stereolupe. Kopepodittene ble kategorisert som mobile eller immobile og tatt bilde av for telling i etterkant på samme måte som ved nauplietellingen.

ImageJ (Schneider *et al.*, 2012, versjon 1.53) systemet ble brukt for å telle antall mobile og immobile nauplier og kopepoditter. En klikkefunksjon (multi-point tool) i programmet ble brukt og på basis av bildene fra den aktuelle prøven ble alle naupliene og kopepodittene markert og summert opp for å få det totale antallet (Figur 10).



Figur 10: Telling av nauplier og kopepoditter ved hjelp av ImageJ versjon 1.53. Til venstre: bilde av nauplier i veieskip. Til høyre: bilde av hvordan tellinger av mobile nauplier ble utført i ImageJ ved hjelp av multi-point tool. Bilde fra: Mikael Furberg, 2021

2.5 Systematisering av data, analyse og statistikk

Alle data fra telling av nauplier og kopepoditter samt eggstrenglengde og estimert antall egg per eggstreng ble satt inn og organisert i et Excel-skjema for videre behandling i RStudio (RStudio Team, 2021, versjon 1.77).

Data om fisk, miljøparametere og selve avlusingen ble innhentet fra selskapene der avlusingene foregikk. Det inkluderte sjøtemperatur, tidligere og senere avlusinger på den gitte merden (Vedlegg B, Tabell B1), vekt og biomasse til fisken, behandlingssinnstillinger, trengingsinformasjon, lusetall og behandlingseffekt (Tabell 4).

Dette samt resultater fra kopepoditt-overlevelse ga grunnlag for videre beregninger av smittepotensial etter behandling.

Databehandling og systematisering ble utført i Excel (Microsoft Corporation, 2021, versjon 16.57). Estimert antall egg i eggstrenger, klekkeprosent og overlevelse fram til kopepoditt ble beregnet i Excel. Alle data fra de innsamlede prøvene ble lagret i ett excel ark med hver sin ID og systematisert. I enkelte tilfeller ble prøver skadet eller mistet på grunn av lekkasje. Disse ble tatt ut av datasettet fra dette tidspunktet for å ikke påvirke de videre statistiske analysene. Data fram til prøven ble mistet ble beholdt.

Alle statistiske analyser ble utført i statistikkprogrammet RStudio (RStudio Team, 2021, versjon 1.77). Figurene med boksplot viser median samt variasjonen i kvartiler, minimumsverdi og maksimumsverdi som utstikkere og ekstremverdier som punkter. Normalfordelingen ble undersøkt ved hjelp av Shapiro-Wilk testen i RStudio, som viste at majoriteten av de forskjellige faktorene i datasettet ikke var normalfordelt. Det ble derfor valgt å bruke en ikke-parametrisk test (Mann-Whitney U test) for å undersøke forskjeller i datasettet. Signifikans nivået ble satt til $p < 0,05$. Gjennomsnittsverdier er oppgitt i gjennomsnitt $\pm$ standardavvik (SD).

3 Resultater

3.1 Bakgrunnsdata, lusetall og behandlingseffekt fra merdbehandlingene

I Tabell 3 er det gitt en oversikt over lusetall og effekten av de ulike avlusingsbehandlingene under feltarbeidet. Den gjennomsnittlige effekten ved avlusingsbehandlingene med Hydrolicer var 95,3 % for bevegelige lus og 88,3 % for kjønnsmoden hunn lus. Effekten av SkaMik-behandling var 60,7 % for fastsittende lus, 91,2 % for bevegelige og 68,8 % for kjønnsmoden hunn lus. Effekten av Optilicer-behandling var 56,6 % for fastsittende lus, 95,1 % for bevegelige, og 78,6 % for kjønnsmoden hunn lus. Total avlusings-effekt for de ulike behandlingstypene var i gjennomsnitt på 92,5 % for Hydrolicer, 87,4 % for SkaMik og 86,2 % for Optilicer.

Tabell 3: Lusetall (Antall lus per fisk) før og etter behandling og effekt (prosentvis reduksjon av lus) ved de ulike behandlingene, fordelt på kategoriene fastsittende lus (F), bevegelig lus (B) og kjønnsmoden hunn lus (KH). Totaleffekten er prosentvis reduksjon av lus for alle lusestadiumene.

Merdbehandling	Lusetall før			Lusetall etter			Avlusings-effekt			
	F	B	KH	F	B	KH	F	B	KH	Total
H1M1	NA	4,2	1,6	NA	0,16	0,13	NA	96 %	92 %	95 %
H1M2	NA	6,15	1,95	NA	0,17	0,17	NA	97 %	91 %	96 %
H1M3	NA	3,1	1,2	NA	0,11	0,11	NA	97 %	91 %	95 %
H2M1	NA	0,7	0,9	NA	0,06	0,19	NA	91 %	79 %	84 %
S1M1	1,9	3,65	1,35	0,02	0,17	0,12	99 %	95 %	91 %	96 %
S1M2	1,2	4,95	1,25	0,2	0,13	0,16	83 %	97 %	87 %	93 %
S2M1	NA	1,35	0,6	NA	0,05	0,15	NA	96 %	75 %	90 %
S2M2	NA	1,10	1,15	NA	0,2	0,1	NA	82 %	91 %	91 %
S3M1	0	0,7	0,05	0,05	0,1	0,1	0 %	86 %	0 %	67 %
O1M1	0,25	6,7	2,15	0,15	0,4	0,2	40 %	94 %	91 %	75 %
O1M2	0,65	7	3,9	0,1	0,65	0,3	85 %	91 %	92 %	89 %
O2M1	1,38	2,32	1,52	0,66	0,11	0,07	52 %	95 %	95 %	84 %
O3M1	0,9	3,75	1,7	0,85	0,2	0,1	6 %	95 %	94 %	82 %
O4M1	0,3	3,35	1,2	0	0,25	0,15	100%	93 %	88 %	96 %
O5M1	NA	0,7	0,15	NA	0	0,09	NA	100%	40 %	89 %
O6M1	NA	4,9	1	NA	0,1	0,5	NA	98 %	50 %	90 %

Bakgrunnsdata for merdbehandlingene er oppgitt i Tabell 4. Gjennomsnittlig behandlingsintervall mellom forrige og prøvetatt behandling var for Hydrolicer 3 uker, SkaMik 10 uker og Optilicer 4 uker. Sjøtemperaturen for de ulike merdbehandlingene varierte fra 9,3 til 12,0 °C med en gjennomsnittstemperatur for Hydrolicer på 10,2 °C, for SkaMik 10,6 °C og for Optilicer på 11,3 °C. De fleste Optilicer-behandlingene hadde en behandlingstemperatur på over 33 °C.

Tabell 4: Bakgrunnsdata for merdbehandlingene. Behandlingstemperatur er oppgitt i °C mens spyletrykk er oppgitt i bar. Uketall er for 2021.

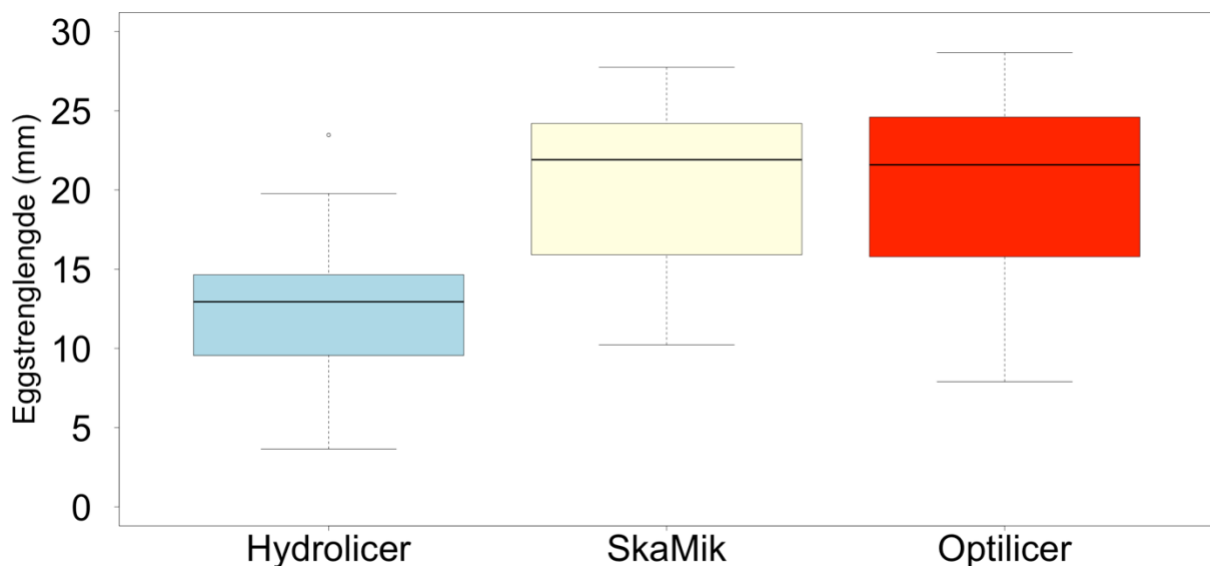
ID	Temp	Snittvekt (kg)	Biomasse (kg)	Behandlingstemp (Optilicer) /Spyletrykk (SkaMik og Hydrolicer)	Forrige behandling	Prøvetaking	Påfølgende behandling
H1M1	10,8	3,73	642000	NA	Uke 40 Mekanisk	Uke 44 Mekanisk	Ingen
H1M2	10,8	4,61	639000	NA	Uke 40 Mekanisk	Uke 44 Mekanisk	Ingen
H1M3	10,8	5,06	646000	NA	Uke 40 Mekanisk	Uke 44 Mekanisk	Ingen
H2M1	8,5	2,2	354000	NA	Uke 47 Mekanisk	Uke 48 Mekanisk	Uke 7 (2022) NA
S1M1	11,5	1,30	130891	4	Uke 26-27 Medisin	Uke 38 Termisk	Uke 42 Mekanisk
S1M2	11,5	1,56	215659	4,05	Uke 26-27 Medisin	Uke 38 Termisk	Uke 42 Mekanisk
S2M1	10,2	4,69	717000	4,2	Uke 38 Mekanisk	Uke 43 Termisk	Ingen
S2M2	10,2	4,04	792000	4,2	Uke 35 Mekanisk	Uke 43 Termisk	Ingen
S3M1	9,6	3,51	547000	4,0 & 4,2	Uke 34 Mekanisk	Uke 46 Termisk	Ingen
O1M1	12,0	3,43	335099	34	Uke 34 Mekanisk	Uke 38 Termisk	Uke 40 Termisk
O1M2	12,0	2,48	361569	34	Uke 34 Mekanisk	Uke 38 Termisk	Uke 40 Termisk
O2M1	11,5	2,46	433987	33,5	Uke 36 Termisk	Uke 38 Termisk	Uke 41 Mekanisk
O3M1	11,3	2,44	377500	33,5	Uke 36 Termisk	Uke 38 Termisk	Uke 41 Mekanisk
O4M1	11,5	3,98	381970	34	Uke 34 Mekanisk	Uke 40 Termisk	Uke 43 Mekanisk
O5M1	11,8	4,12	667900	34	Uke 35 Termisk	Uke 40 Termisk	Ingen
O6M1	9,3	2,50	284970	31,5-33	Uke 44 Mekanisk	Uke 47 Termisk	Uke 50 Mekanisk

3.2 Før behandling

3.2.1 Eggstrenglengde

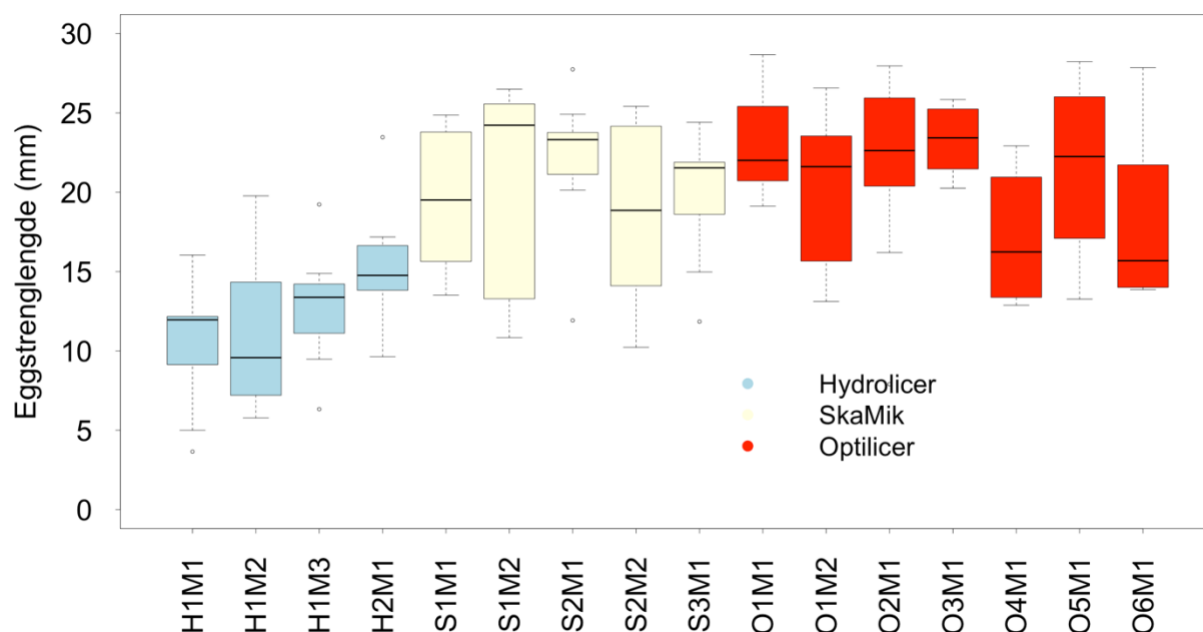
Figur 11 viser eggstrenglengdene for FØR-prøvene for de ulike behandlingstypene. Eggstrengene fra FØR-prøvene for Hydrolicer-behandlingene var signifikant kortere enn de fra SkaMik ($p < 0,001$) og fra Optilicer ($p < 0,001$), mens de to sistnevnte var like lange ($p > 0,05$). Lengden for alle innsamlede eggstrenger viste et gjennomsnitt på $17,9 \pm 4,5$ mm (gjennomsnitt $\pm$ SD). For de ulike behandlingsmetodene hadde Hydrolicer FØR-prøvene en gjennomsnittlig eggstrenglengde på $12,5 \pm 4,2$ mm, SkaMik hadde et gjennomsnitt på $20,4 \pm 5,0$ mm, mens Optilicer hadde et gjennomsnitt på $20,6 \pm 4,9$ mm.

Histogram over eggstrenglengde for FØR-prøvene (Vedlegg C, Figur C1) viste at for Hydrolicer det var en topp mellom 10-15 mm mens det for de to andre metodene var en todeling med en topp på 10-15 mm og den største toppen på 20-25 mm. Siden utgangspunktet i eggstrenglengde var forskjellige og hadde stor variasjon mellom Hydrolicer og SkaMik, ble de ikke vurdert sammen som mekanisk behandling men heller hver for seg.



Figur 11: Boksplot (median med variasjon i kvartiler samt minimum og maksimum) over eggstrenglengde for FØR-prøvene ved avlusing med Hydrolicer ($n=40$), SkaMik ($n=48$) og Optilicer ($n=66$).

Det var stor variasjon i eggstrenglengden og alle merdbehandlingene utført med Hydrolicer viste en gjennomgående kortere eggstrenglengde enn de øvrige behandlingene for FØR-prøvene (Figur 12). Gjennomsnittlig eggstrenglengde for Hydrolicer-behandlingene varierte fra $11,0 \pm 3,9$ til $15,2 \pm 3,7$ mm, SkaMik-behandlingene hadde en gjennomsnittlig eggstrenglengde fra $18,7 \pm 6,2$ til $22,4 \pm 3,6$ mm, mens Optilicer-behandlingene hadde gjennomsnittlig eggstrenglengde fra $16,9 \pm 3,9$ til $23,3 \pm 2,3$ mm. For de merdbehandlingene som ble gjennomført med samme avlusingsmetode, dag og lokalitet var det ingen signifikant forskjell ($p > 0,05$). Dette gjaldt behandlingene H1M1, H1M2 og H1M3 (hhv $p = 0,971$ og $0,280$), O1M1 og O1M2 ($p=0,280$), S1M1 og S1M2 ($p=0,697$) og S2M1 og S2M2 ($p = 0,287$).



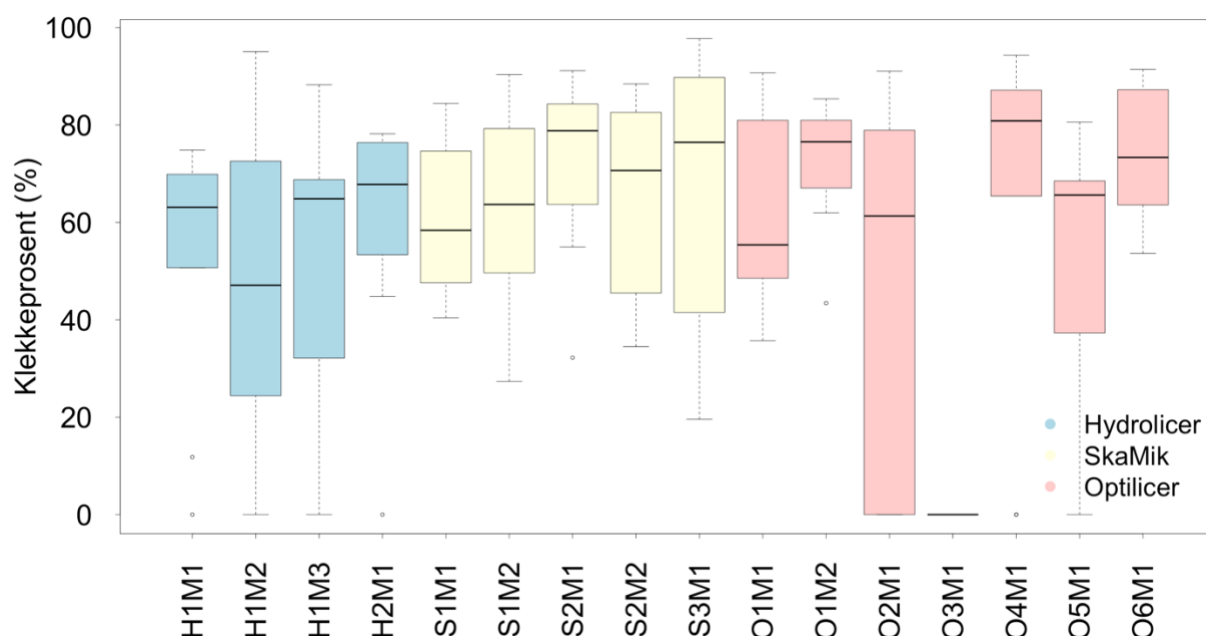
Figur 12: Boksplot (median med variasjon i kvartiler samt minimum og maksnivå) over estimert eggstrenglengde (mm) for FØR-prøvene ved de ulike merdbehandlingene. Antall observasjoner n for de ulike boksplottene er varierende, $n=6-14$ (se Vedlegg B, Tabell B2).

3.2.2 Klekkeprosent

Figur 13 viser klekkeprosent, definert som prosent nauplier per totalt antall egg i eggstrengen, for FØR-prøvene for de ulike merdbehandlingene. Resultatene viste noe variasjon i klekkeprosent mellom de ulike merdbehandlingene. Klekkeprosenten for FØR-prøvene til Hydrolicer-behandlingene var noe lavere enn den for SkaMik ($p=0,019$) men lik Optilicer ($p=0,038$) behandlingene, mens de to sistnevne hadde også tilnærmet lik klekkeprosent ($p > 0,05$). Hydrolicer FØR-prøvene hadde en gjennomsnittlig klekkeprosent på $52,2 \pm 28,1$ %, SkaMik en gjennomsnittlig klekkeprosent på $66,1 \pm 20,3$ % og Optilicer en gjennomsnittlig klekkeprosent på $61,7 \pm 28,2$ %.

For merdbehandlingene som ble gjennomført ved samme avlusingsoperasjon og lokalitet var det ingen signifikant forskjell. Dette gjaldt behandlingene H1M1, H1M2 og H1M3 (hhv

$p = 0,713$ og $0,885$), O1M1 og O1M2 ($p=0,382$), S1M1 og S1M2 ($p=0,633$) og S2M1 og S2M2 ($p = 0,438$).



Figur 13: Boksplot (median med variasjon i kvartiler samt minimum og maksimum) over klekkeprosent (prosent nauplier per totalt antall egg i eggstrengen) for FØR-prøvene for de ulike merdbehandlingene. Antall observasjoner n for de ulike boksplottene er varierende, $n=1-13$ (se Vedlegg B, Tabell B2).

3.3 Klekke- og utviklingssuksess under og etter avlusing

3.3.1 Andel eggstrenger som klekket

Andel (%) av eggstrengene som klekket (antall eggstrenger som klekket delt på det totale innsamlede eggstrenger) var relativt lav for FILTER-prøvene for Hydrolicer (72,2 %) og Optilicer (61,4 %) sammenlignet med FØR- og ETTER-prøvene. Det ble registrert størst forskjell i andel som klekket mellom førprøvene hos SkaMik (97,9 %) sammenlignet med for Hydrolicer (85,0 %) og Optilicer (89,4 %) (Tabell 5). For ETTER-prøvene var andelen eggstrenger som klekket tilnærmet lik for de ulike behandlingstypene.

Tabell 5: Andel (%) av eggstrengene som klekket fordelt på prøvetidspunkt og type behandling. Nederst er antall observasjoner (eggstrenger som er hentet inn under feltarbeidet) som inngår i beregningene.

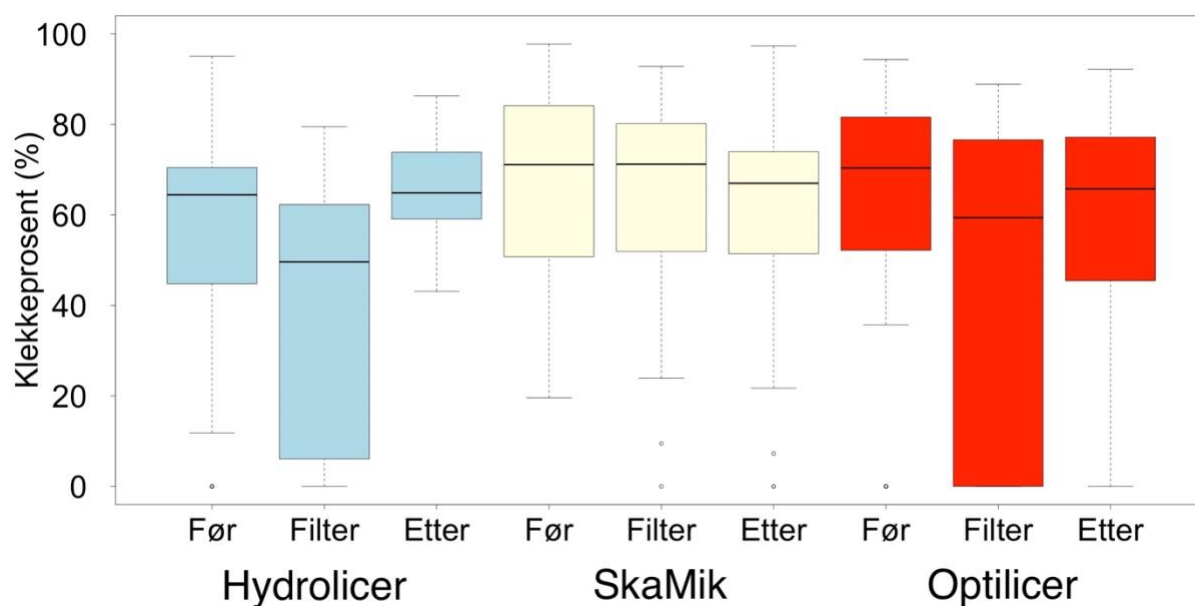
Avlusningstype	Hydrolicer			SkaMik			Optilicer		
	FØR	FILTER	ETTER	FØR	FILTER	ETTER	FØR	FILTER	ETTER
Andel klekking (%)	85,0	72,2	91,0	97,9	91,4	94,6	89,4	61,4	87,5
Antall observasjoner (n)	40	36	22	48	58	37	66	44	48

3.3.2 Klekkeprosent og overlevelse til kopepoditt-stadiet

Figur 14 viser klekkeprosent (prosent nauplier per totalt antall egg i eggstrengen) for FØR-, FILTER- og ETTER-prøvene for de ulike behandlingstypene. Det var ingen signifikant forskjell i klekkeprosent mellom FØR- og ETTER-prøvene for de ulike behandlingene med Hydrolicer ($p=0,195$), SkaMik ($p=0,185$) og Optilicer ($p=0,330$). Klekkeprosent for ETTER-prøvene fra de ulike behandlingstypene var heller ikke signifikant forskjellige (Hydrolicer-SkaMik $p=0,498$, Hydrolicer-Optilicer $p=0,749$ og SkaMik-Optilicer $p=0,904$). Den gjennomsnittlige klekkeprosenten for FØR- og ETTER-prøvene var $60,5 \pm 12,9$ %.

Klekkprosent for SkaMik for FILTER-prøvene var signifikant høyere enn for de to øvrige behandlingsmetodene (Hydrolicer: $p<0,01$ og Optilicer $p=0,012$). Stor variasjon ble funnet spesielt for Hydrolicer (standardavvik 29,8 %) og Optilicer (standardavvik 39,1 %).

FILTER-prøvene ble ikke lagt særlig vekt på i diskusjonen fordi de var upålitelige og det var stor variasjon i resultatene for disse, noe som skyldtes at det var brukt ulike filtertyper for avskilling av lus på de ulike fartøyene og at variasjonen ikke kunne tilskrives avlusningstype alene.

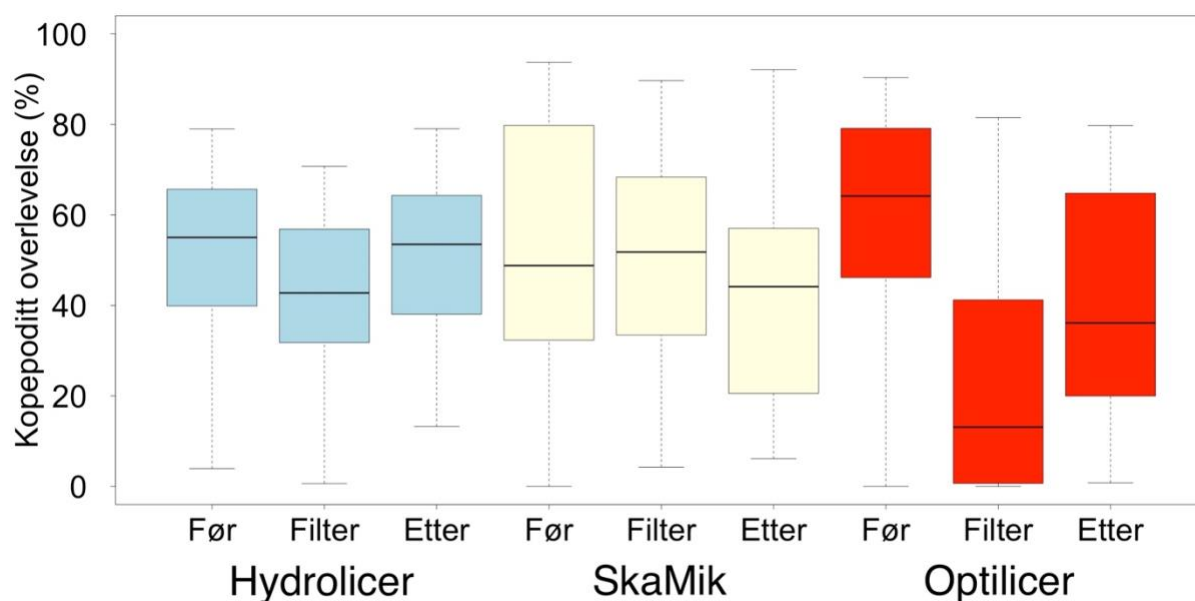


Figur 14: Boksplot (median med variasjon i kvartiler samt minimum og maksimum) over klekkeprosent (prosent nauplier per totalt antall egg i eggstrengen) for de ulike behandlingstypene og prøvetidspunktene. Antall observasjoner n for de ulike boksplottene er vist i tabell 5.

Figur 15 viser kopepoditt-overlevelse (prosent aktive kopepoditter per totalt antall egg i eggstrengen) for de ulike behandlingstypene og prøvetidspunkt. Overlevelsen av kopepoditter var varierende mellom de ulike behandlingstypene. For Hydrolicer var det ingen signifikant forskjell mellom FØR og ETTER-prøvene ($p=0,992$). Samme utfallet ble også funnet for SkaMik der ingen signifikant forskjell kunne måles mellom FØR- og ETTER-prøvene ($p=0,516$). For Optilicer var det en signifikant reduksjon i overlevelse fram til kopepoditt mellom FØR- og ETTER-prøvene ($p=0,006$).

Det var ingen signifikant forskjell mellom ETTER-prøvene for de ulike behandlingstypene (Hydrolicer-Optilicer $p=0,165$, Hydrolicer-SkaMik $p=0,298$ og SkaMik-Optilicer $p=0,776$). Heller ingen forskjeller ble funnet for FØR-prøvene, som ikke har vært gjennom behandling. For FILTER-prøvene ved de ulike behandlingstypene viste Optilicer signifikant lavere overlevelse av kopepoditter enn både Hydrolicer ($p=0,019$) og SkaMik ($p=0,001$). Variasjonen til Optilicer FILTER-prøvene skilte seg også ut med et standardavvik på 29,1 % (Figur 15).

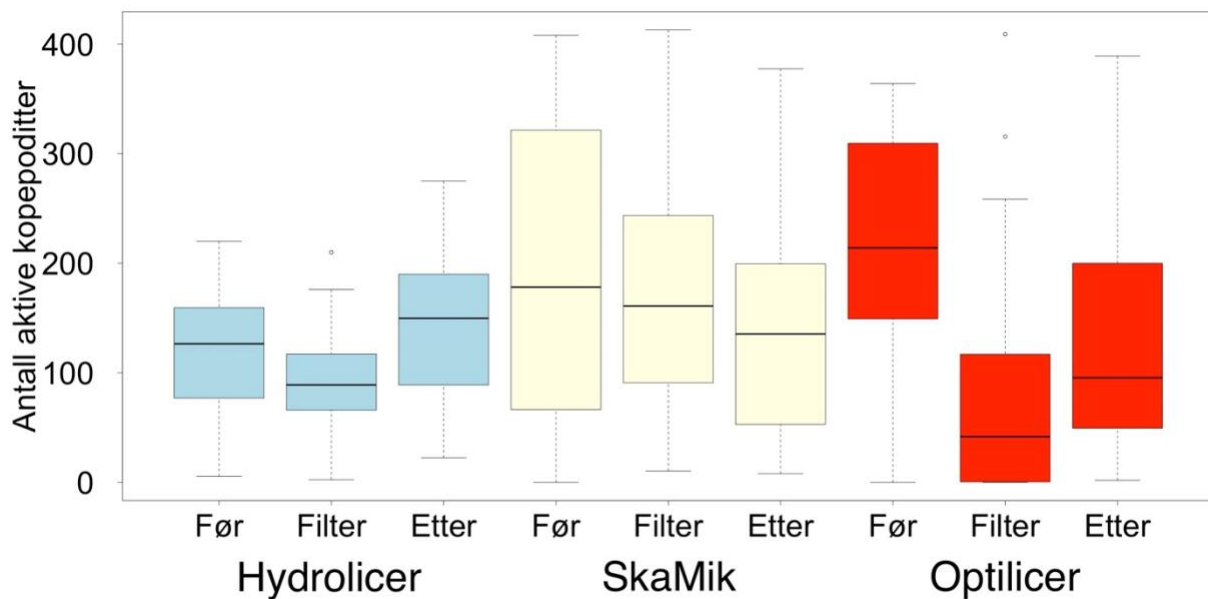
Den gjennomsnittlige kopepoditt-overlevelsen var for Hydrolicer (FØR $49 \pm 26,1$ %, ETTER $51 \pm 16,3$ % for Hydrolicer), SkaMik (FØR $49 \pm 30,0$ %, ETTER $44 \pm 22,5$ % for SkaMik) og Optilicer (FØR $59,2 \pm 22,7$ %, ETTER $39 \pm 26,4$ %).



Figur 15: Boksplot (median med variasjon i kvartiler samt minimum og maksimum) over kopepoditt-overlevelse (prosent aktive kopepoditter per totalt antall egg i eggstrengen) for de ulike behandlingstypene og prøvetidspunkt. Verdiene er basert på kopepoditt-overlevelse for eggstrengene som klekket. Antallet observasjoner som utgjør boksplottene er vist i Tabell 5.

3.3.3 Antall kopepoditter per eggstreng

Figur 16 viser antall aktive kopepoditter per eggstreng for de ulike behandlingstypene og prøvetidspunktene. Antall aktive kopepoditter per eggstreng for Optilicer var signifikant lavere for ETTER-prøvene enn for FØR-prøvene ($p = 0,002$), mens for Hydrolicer og SkaMik var de like ($p > 0,05$). For FØR-prøvene ble det funnet en signifikant forskjell mellom Hydrolicer og SkaMik ($p = 0,042$), og mellom Hydrolicer og Optilicer ($p < 0,001$). Ingen signifikant forskjell ble funnet mellom ETTER-prøvene for de ulike behandlingstypene. For FILTER-prøvene var det en signifikant høyere antall aktive kopepoditter for SkaMik enn for Hydrolicer ($p < 0,05$) og Optilicer ($p < 0,05$). Gjennomsnittlig antall aktive kopepoditter per eggstreng var for Hydrolicer FØR 114 ± 62 individer og ETTER 142 ± 65 , SkaMik FØR 190 ± 133 og ETTER 150 ± 98 og Optilicer FØR 213 ± 100 og ETTER 129 ± 105 .

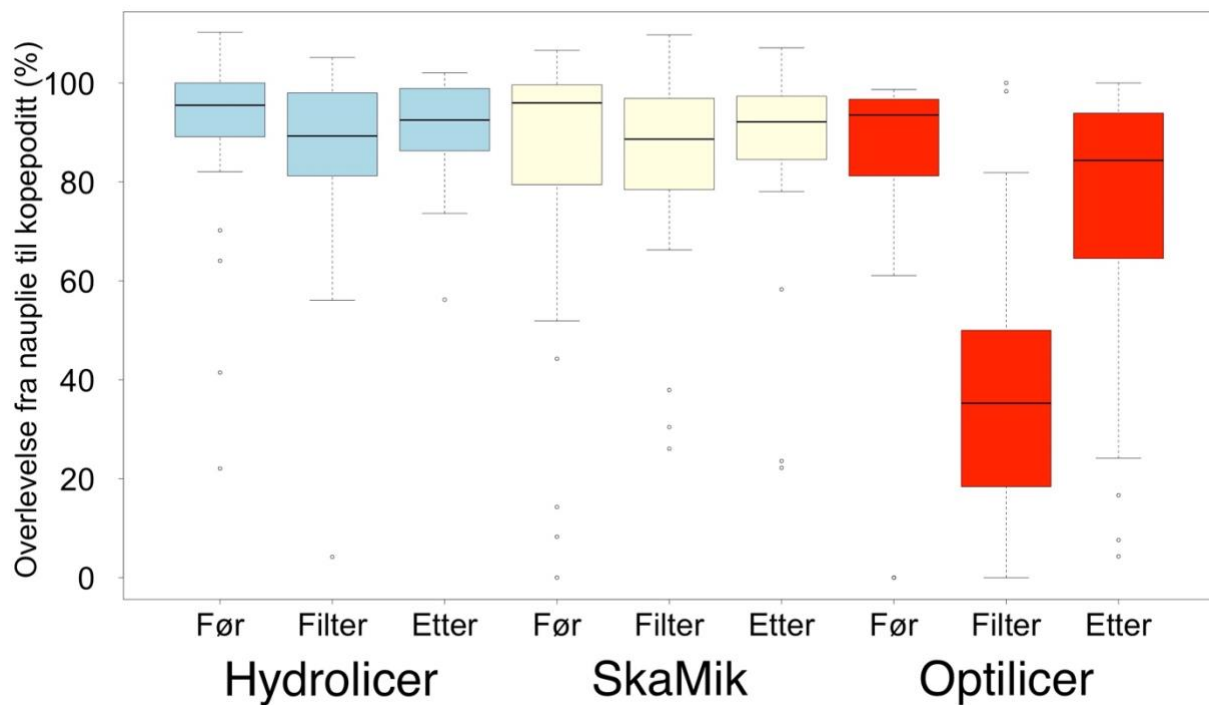


Figur 16: Boksplot (median med variasjon i kvartiler samt minimum og maksimum) for antall aktive kopepoditter per eggstreng for de ulike behandlingstypene og prøvetidspunktene. Antall observasjoner n for de ulike boksplottene er vist i Tabell 5.

3.3.4 Overlevelse fra nauplie til kopepoditt

Figur 17 viser overlevelse fra nauplie til kopepoditt-stadiet per eggstreng (prosent aktive kopepoditter per totalt antall aktive nauplier fra eggstrengen). Det ble funnet en signifikant forskjell mellom FØR- og ETTER-prøvene for Optilicer ($p < 0,05$), mens overlevelse fra nauplie fram til kopepoditt-stadiet for de to andre behandlingsmetodene var lik for FØR- og ETTER-prøvene. Mellom ETTER-prøvene for de ulike behandlingstypene var det en signifikant forskjell i overlevelse mellom Optilicer og Hydrolicer/SkaMik ($p = 0,02$ og $p = 0,03$). For FILTER-prøvene var det en signifikant lavere overlevelse fra nauplie til kopepoditt-stadiet for Optilicer sammenlignet med Hydrolicer ($p < 0,05$) og SkaMik ($p < 0,05$).

Gjennomsnittsoverlevelsen fra nauplie til kopepoditt-stadiet var for Hydrolicer FØR $90,1 \pm 18,6$ % og ETTER $89,7 \pm 11,9$ %, SkaMik FØR $82,1 \pm 31,3$ % og ETTER $88,3 \pm 14,1$ % og Optilicer FØR $83,3 \pm 25,6$ %, og ETTER $72,6 \pm 28,8$ %.



Figur 17: Boksplot (median med variasjon i kvartiler samt minimum og maksimum) for overlevelse fra nauplie til kopepoditt-stadiet per eggstreng (prosent aktive kopepoditter per totalt antall aktive nauplier fra eggstrengen). Verdier over 100 % kan skyldes at naupliene var immobile ved første telling og var blitt mobile når det ble foretatt kopepoditt-telling. Antall observasjoner n for de ulike boksplottene er vist i Tabell 5.

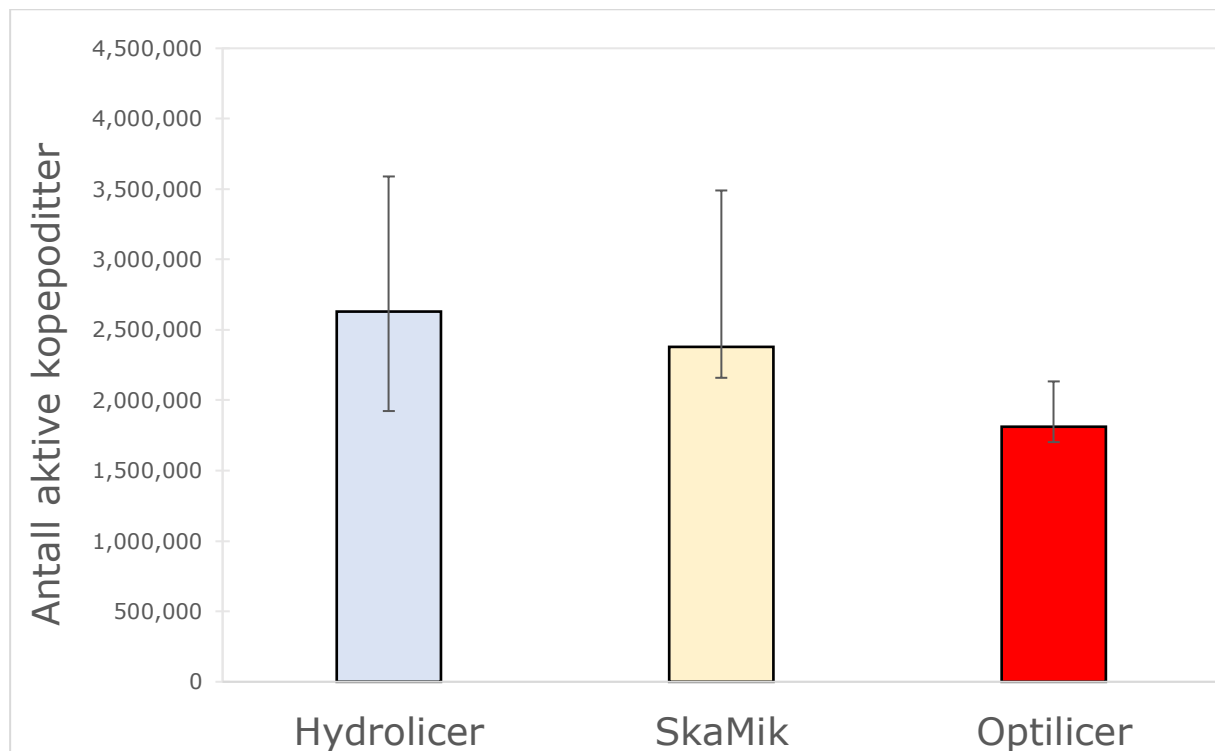
3.4 Smittepotensial etter behandling

Tabell 6 viser beregningene gjort for smittepotensial etter behandling. Beregningene er basert på innsamlede data om lusetall fra oppdrettsselskapene (Tabell 3), resultater fra Tabell 5 samt antall aktive kopepoditter per hunn lus og viser hvor mange aktive kopepoditter som kan utvikle seg etter en merdbehandling og antall aktive kopepoditter per fisk fra hver behandling. Det ble registrert stor variasjon i hvor mye som kan komme ut mellom de ulike merdbehandlingene på 1,22 til 4,60 millioner (10-39 per fisk) kopepoditter.

Tabell 6: Beregninger av antall aktive kopepoditter fra hver merdbehandling og antall aktive kopepoditter per fisk. Bakgrunn for beregningene var verdier i Tabell 3 (Kjønnsmoden hunn lus (KH) ved uttelling) og Tabell 5 (Andel eggstrenger som klekkes). Gjennomsnittlig antall aktive kopepoditter per hunn lus er hentet fra innsamlet data. Antall lus som har eggstrenger er basert på data fra Antonsen (2021) som fant at 56 % av KH har eggstrenger etter behandling med Hydrolicer.

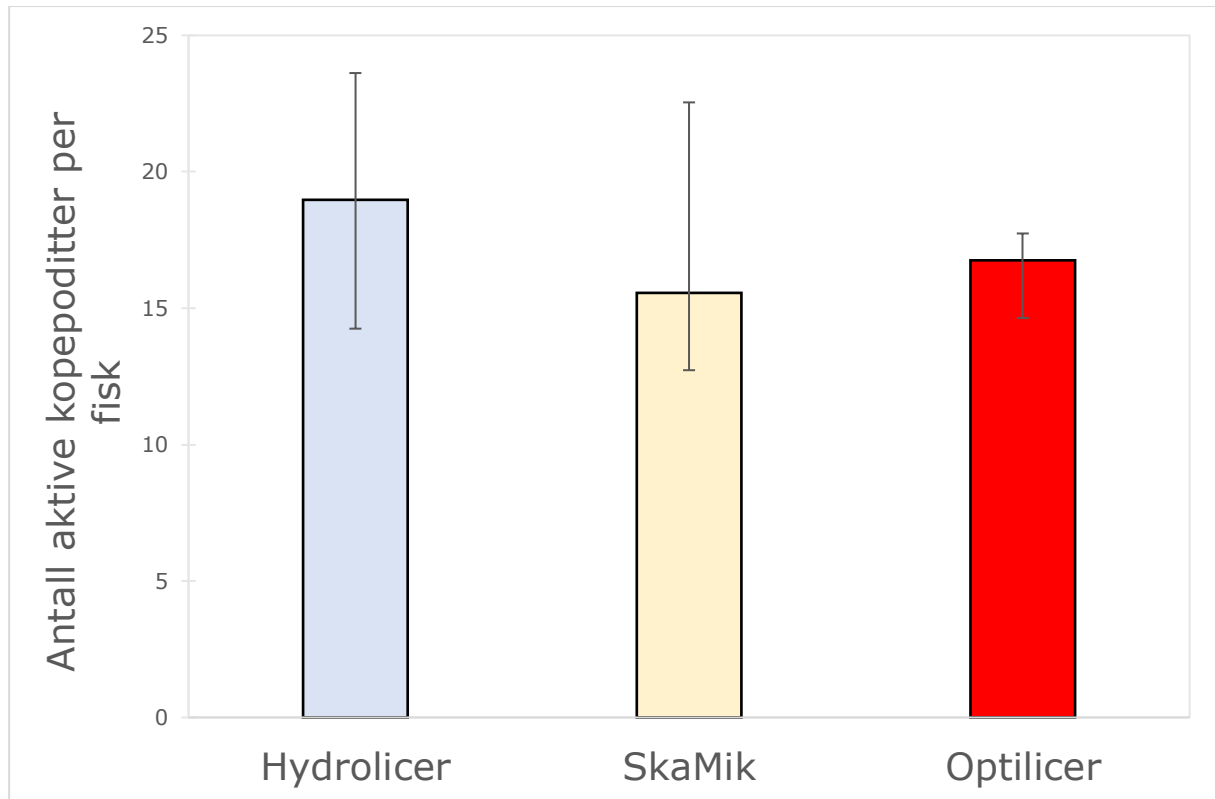
ID	KH ved uttelling	Antall KH som har eggstrenger	Antall eggstrenger som klekkes	Gjennomsnittlig antall aktive kopepoditter per hunn lus	Antall aktive kopepoditter fra merdbehandling	Antall aktive kopepoditter per fisk etter behandling
H1M1	22375	12530	11402	NA	NA	NA
H1M2	23564	13196	12008	219	2 629 803	19
H1M3	14043	7864	7157	170	1 216 615	10
H2M1	30573	17121	15580	292	4 549 317	28
S1M1	12082	6766	6428	NA	NA	NA
S1M2	22119	12387	11767	NA	NA	NA
S2M1	22932	12842	12200	195	2 378 935	16
S2M2	19604	10978	10429	186	1 939 855	10
S3M1	15584	8727	8291	555	4 601 332	30
O1M1	19539	10942	9629	170	1 636 933	17
O1M2	43738	24493	21554	99	2 133 864	15
O2M1	12349	6916	6086	NA	NA	NA
O3M1	15471	8664	7624	NA	NA	NA
O4M1	14396	8062	7094	240	1 702 620	18
O5M1	14590	8170	7190	252	1 811 878	11
O6M1	56994	31917	28087	160	4 493 863	39

Antall aktive kopepoditter som representerte et potensial for smitte etter én merdbehandling med de ulike behandlingstypene er vist i Figur 18. Optilicer hadde et noe lavere antall aktive kopepoditter etter én merdbehandling enn både Hydrolicer og SkaMik men ingen signifikante forskjeller ble funnet ($p > 0,05$).



Figur 18: Median (barrene viser variasjon i kvartiler) antall aktive kopepoditter som kommer fra merdbehandling med de ulike behandlingstypene. Basert på antall fisk behandlet (Tabell 4), kjønnsmodne hunnlus som slippes ut fra de ulike merdbehandlingene (Tabell 3), andel kjønnsmodne hunnlus som har eggstrenger ved utløp av avlusingene og andel eggstrenger som klekker (Tabell 5). Beregningene og antall n observasjoner er gitt i Tabell 6.

Figur 19 viser antall aktive kopepoditter per fisk som representerte potensialet for smitte etter behandling med de ulike behandlingstypene. Antallet kopepoditter per fisk etter behandling var like for behandlingstypene ($p > 0,05$).



Figur 19: Median (barrene viser variasjon i kvartiler) antall aktive kopepoditter per fisk som kommer fra merdbehandling med de ulike behandlingstypene. Beregningen er basert på antall fisk behandlet (Tabell 4), kjønnsmodne hunnlus som slippes ut fra de ulike merdbehandlingene (Tabell 3), andel kjønnsmodne hunnlus som har eggstrenger ved utløp av avlusingene og andel eggstrenger som klekker (Tabell 5). Beregningene og antall observasjoner n er gitt i Tabell 6.

4 Diskusjon

Formålet med denne studien var å undersøke generell klekkesuksess, utviklingen og overlevelsen av kopepoditt-stadiet og sammenligne smittepotensialet av lakselus-larver som klekker fra eggstrenger som har vært gjennom mekaniske og termiske avlusningsbehandlinger. Behandlingstypene som ble undersøkt og vurdert var Hydrolicer, SkaMik og Optilicer. Hovedfunnene i dette studie tyder på at eggstrengene som har vært gjennom de ulike behandlingene klekker like godt som eggstrengene som ikke har vært gjennom behandlingen, larvene overlever godt fram til kopepoditt-stadiet med noe forskjell mellom de ulike behandlingstypene, der Optilicer kan generere et noe lavere smittepress etter behandling. Dette tilsier at smittepotensialet etter behandling dermed var høyt, noe som overenstemmer med den høye hyppigheten av lusebehandling i næringen (Vedlegg B, Tabell B1).

4.1 Behandlingseffekt

Resultatene i dette studiet viste en like god avlusingseffekt for alle behandlingstypene på bevegelige lus (Preadult 1 og 2, Adult hannlus) med en effekt på mellom 91,2 – 95,3 %. En noe varierende effekt ble sett på kjønnsmoden hunn lus (Tabell 3) med gjennomsnittseffekt for Hydrolicer på 88,3 %, SkaMik 68,8 % og Optilicer 78,6 %. For fastsittende lus ble det funnet en relativt dårlig effekt for SkaMik på 60,7 % og Optilicer på 56,6 %. Manglende data fra Hydrolicer-behandlingene gjør at verdier mangler for effekten for det fastsittende stadiet.

Effektene av behandlingene var i godt samsvar med tidligere studier gjort for effekten av Hydrolicer (79-95 % på bevegelige lus og 55-92 % på kjønnsmodne lus, (Erikson *et al.*, 2018) og dokumentasjon av kommersiell behandling med SkaMik beskrevet av Westgård *et al.* (2021), med en effekt for fastsittende lus på mellom 63-67 %, en effekt på 90-100 % for bevegelig lus, mens effekten på kjønnsmoden lus varierte mye, fra 50 til 100 %. For Optilicer finnes det lite publiserte resultater om behandlingseffekten for de ulike stadiene, men effektene funnet i denne studien viste en lik effekt på de ulike stadiene av lus som for de andre behandlingstypene. Dette tyder på at det er det fastsittende stadiet som er vanskeligst å få bort og at leverandørene av avlusingsteknologiene muligens har hatt hovedfokus på å fjerne de senere stadiene som ofte skaper mest velferdsproblemer for fisken (Johnsen *et al.*, 2020). Plasseringen til lusa på fisken kan også ha hatt en påvirkning da fastsittende lus har en tendens til å feste seg på undersiden av fisken og halefinnen i motsetning til de bevegelige stadiene (Bui *et al.*, 2020; Antonsen, 2021). Teknologien i avlusingssystemene kan ha noe forskjeller i påvirkning på områdene til fisken. Egenskapene til det fastsittende stadiet (Chalimus 1 og 2) er også forskjellige fra det bevegelige stadiet siden de er mindre og har et frontalfilament som gjør at de festes

godt til hudlaget på fisken (Schram, 1993) noe som også kunne tenkes å ha påvirket den relativt dårlige effekten på dette stadiet. Denne mistes når lusa utvikles til det neste stadiet og begynner å bevege seg (Schram, 1993). Det er også sagt at det fastsittende stadiet er vanskelig å se på fisken når lusetelling gjøres noe som også kan skape en usikkerhet i beregninger av avlusingseffekt (Thorvaldsen *et al.*, 2018).

I forsøkene ble det funnet en ganske god men varierende effekt på kjønnsmodne hunnlus, noe som har en direkte virkning på videre estimert smittepotensiale. En avlusingseffekt på mellom 69-88 % på kjønnsmodne hunnlus for de ulike behandlingstypene vil kunne bety at et betydelig antall kjønnsmodne hunnlus blir med gjennom behandling, noe som kan gi problemer med ytterligere smitte og nødvendighet for nye behandlinger. For å gi ett anslag på hvor mye kjønnsmodne hunnlus som kan frigjøres ved én merdbehandling, viser beregninger av gjennomsnittlig antall kjønnsmodne hunnlus per fisk ved uttelling (0,17; Tabell 6) og gjennomsnittlig antall behandlede fisk (143 000) at omlag 24 000 kjønnsmodne hunnlus blir med gjennom behandling og tilbake til merda.

Samlet effekt for alle stadier viste en lik effekt for de ulike behandlingstypene og at det stort sett var en relativt dårlig effekt på fastsittende lus, god effekt på bevegelige lus og en mer varierende effekt ut fra hver merdbehandling på kjønnsmodne hunnlus. Det er vanskelig å gi et klart svar på hvorfor det er så stor variasjon i effekt på kjønnsmodne hunnlus mellom hver behandling, men av de behandlingene det ble tatt prøver fra vistest det dårligst effekt når lusenivåene før behandling var lave (Tabell 3). Den varierte effekten på kjønnsmodne hunnlus samsvarer også med tidligere resultater (Westgård *et al.*, 2021; Sjømat Norge, 2020) og ved lave lusetall kan det være større usikkerhet i effektberegningene.

4.2 Utgangspunktet for behandlingene

Eggstrenglengden ble målt for å kunne estimere antall egg og dermed finne klekkeprosent (prosent nauplier per totalt antall egg i eggstrengen) for de ulike prøvetidspunktene. Lakselusa i Hydrolicer-behandlingene hadde en kortere eggstrenglengde for FØR-prøvene enn de andre to behandlingstypene SkaMik og Optilicer (Figur 11). Dette kan også ses i Figur 12 som viser eggstrenglengdene for alle merdbehandlingene. Fra tidligere har det blitt funnet en sammenheng mellom sjøtemperatur og eggstrenglengde, en sammenheng som i hovedsak var representativ for ekstreme lave og høye verdier hvor lavest er sett ved temperatur på 3 og 20 °C (Samsing *et al.*, 2016). Temperaturvariasjonen i dette studiet var mellom 8,5 og 12,0 °C, og Hydrolicer-behandlingene hadde relativt lik gjennomsnittstemperatur som ved

SkaMik og Optilicer behandlinger. Sjøtemperaturen kunne følgelig ikke forklare forskjellen i eggstrenglengde i forsøkene.

Tabell 4 viser at Hydrolicer-behandlingene totalt hadde et gjennomsnittlig kortere behandlingsintervall mellom forrige og prøvetatt behandling med 3 uker. For de merdbehandlingene (Figur 12) med gjennomsnittlig eggstrenglengde lengre enn gjennomsnittlig eggstrenglengde for alle eggstrengene på $17,9 \pm 4,5$ mm var behandlingsintervallet fra forrige behandling på 6,4 uker. Derimot for merdbehandlingene som hadde gjennomsnittlig eggstrenglengde under $17,9 \pm 4,5$ mm var behandlingsintervallet på 3,7 uker. Det var også store variasjoner i behandlingsintervall mellom merdbehandling med lus som hadde lange eggstrenger over 17,9 mm, fra 2-12 uker. Dermed kan det tyde på at høyere forekomst av lange eggstrenger kan oppleves ved lengre behandlingsintervall, noe som kan ha betydning for videre smitte og klekking. I tillegg ble det vist at Hydrolicer-behandlingene hadde noe bedre effekt på kjønnsmodne hunnlus enn de to andre behandlingstypene (Tabell 3). Dette kan bety at prøvemateriale hentet fra Hydrolicer-behandlingene oftere inneholdt kjønnsmodne hunnlus med sitt første eggstrengpar som vanligvis er kortere enn de neste eggstrengparene (Heuch *et al.*, 2000). Lusenivåene før Hydrolicer-behandlingene var også høye spesielt sammenlignet med SkaMik-behandlingene, noe som også kan ha påvirket det korte behandlingsintervallet.

Gjennomsnittlig eggstrenglengde i dette studiet var $17,9 \pm 4,5$ mm, noe som samsvarer godt med tidligere studier. Andre studier har funnet at eggstrenglengde har vært $19,4 \pm 4,21$ mm ved 10 °C (Eisenhauer *et al.*, 2020), mellom 16-19 mm (Heuch *et al.*, 2000; Figure 1) og $15 \pm 1,5$ mm ved en temperatur på 9 °C (Samsing *et al.*, 2016). I utgangspunktet var det tenkt å sammenligne mekanisk og termisk avlusing og sette resultatene fra Hydrolicer og SkaMik sammen. Grunnet stor variasjon i eggstrenglengde mellom de ulike avlusingsmetodene ble det bestemt å sette opp avlusingsmetodene hver for seg og sammenligne de derfra, selv om Hydrolicer og SkaMik har en relativ lik virkningsmekanisme mot lus med spyling.

4.3 Klekking og overlevelse av lakselus-larver etter behandling med ulike avlusingsmetoder

Andel av eggstrengene som faktisk klekket var lik mellom FØR- og ETTER-prøvene for de ulike behandlingstypene, men SkaMik hadde en noe høyere andel eggstrenger som klekket på begge disse prøvetidspunktene (Tabell 5). Dette tyder på at selve klekkingen blir lite påvirket av behandlingene.

I denne studien ble det funnet at eggstrengene som hadde vært gjennom behandling (ETTER-prøvene) klekket like effektivt som eggstrengene som ikke hadde vært gjennom mekanisk eller varmtvannsbehandling (FØR-prøvene) (Figur 14). Gjennomsnittlig klekkeprosent (prosent nauplier per totalt antall egg i eggstrengen) for FØR-og ETTER-prøvene var $60,5 \pm 12,9$ %. Basis for å estimere klekkeprosenten var estimert antall egg i eggstrengene og antall nauplier som ble telt etter klekking. Det ble valgt å også ta med immobile i beregningene av klekkeprosent fordi de var adskilt fra eggstrengen etter fullført klekking og det kunne ikke konkluderes om hvorvidt de var aktive når de klekket. Estimering av antall egg i eggstrengene ble basert på estimering av eggstørrelsen som ble funnet å være $56,9 \pm 2,20$ μm /egg (Vedlegg A, Tabell A2), noe som var litt lavere enn verdiene 60-64 μm /egg funnet av Heuch *et al.* (2000) og $62 \pm 0,8$ μm /egg som ble estimert av Samsing *et al.* (2016).

En forklaring kan være at det i denne studien ble brukt mobiltelefon-kamera for å ta bilder av eggstrengene, mens det i de to andre studiene ble det brukt utstyr som sikret noe bedre bildekvalitet for å se eggene. For metoddelen anbefales det å finne andre metoder for å ta bilder av eggstrenger for å gjøre estimering/telling av egg mer nøyaktig og enklere, da mobiltelefon kamera og avlusingsfartøy som beveger seg ikke alltid var en god kombinasjon. Med en gjennomsnittlig eggstrenglengde på $17,9 \pm 4,50$ mm og bruk av eggstørrelse $62 \pm 0,8$ μm /egg (Samsing *et al.*, 2016) utgjorde differensen i eggstørrelse på 5,10 μm /egg en forskjell i 26 egg per eggstreng sammenlignet med eggstørrelsen på $56,9 \pm 2,20$ μm /egg som ble funnet i denne studien. Med bruk av estimert eggstørrelse fra Samsing *et al.* (2016) på $62 \pm 0,8$ μm /egg ville endringen ha blitt en 5 % høyere gjennomsnittlig klekkeprosent, noe som ikke ville ha påvirket forskjellsberegningene i denne studien. Denne eventuelle feilestimeringen ville dermed ikke hatt store konsekvenser. Forskjellen i eggstørrelse mellom denne studien og Samsing *et al.* (2016) og Heuch *et al.* (2000) kan også tilskrives forskjell i metode for estimering av eggstørrelsen. I de to nevnte studiene ble 10 egg målt på to steder i eggstrengene, delt på 10 og så gjennomsnitt, mens for denne studien ble 30 egg målt på 4 steder på eggstrengen og dette ble utført på 10 eggstrengpar før det ble tatt gjennomsnitt av alle målingene. En annen faktor som kan ha påvirket forskjellene er vist

i (Samsing *et al.*, 2016) der det var tydelige forskjeller i eggstørrelse når eggstrengene var inkubert i forskjellige temperaturer. I denne studien var eggstrengene inkubert ved 11-12 °C, mens det ved Samsing *et al.* (2016) og Heuch *et al.* (2000) ble brukt forskjellige temperaturer.

Det finnes få vitenskapelige artikler på klekkesuksess for lakselus, en studie har rapportert en klekkesuksess på over 80 % (Espedal *et al.*, 2013), men metoden anvendt i den studien var forskjellig fra metoden anvendt her. Klekkesuksessen på over 80 % ble funnet i få tilfeller (20 eggstrengpar), og de eggstrengene som ikke klekket ble tatt ut av datasettet. I vårt studie på 400 eggstrengpar og single eggstrenger ble de som ikke klekket også tatt med inn i beregningen av klekkeprosent, dette fordi det er trolig en sjanse for at det er en andel av eggstrengene i naturen som også ikke klekker og dette gir da mer relevante tall. En annen studie av Gravil (1996) med tilsvarende metode som denne studien fant en gjennomsnittlig klekkeprosent på 59,9 % noe som stemmer godt overens med våre funn. Andre studier har definert klekkesuksess som antall som vellykket har utviklet seg til kopepoditter. Hamre *et al.* (2009, Tabell 3) fant ut at gjennomsnittlig antall kopepoditter som utviklet seg per eggstreng var mellom 149-218 noe som stemmer godt med funnene denne studien med gjennomsnittlig antall aktive kopepoditter per eggstreng for FØR- og ETTER-prøvene på 157 ± 101 . I alle tilfeller tydet data på en like høy klekkeprosent både FØR og ETTER behandling og at effekten av både Hydrolicer, SkaMik og Optilicer i større grad må sees i sammenheng med hvor mye kjønnsmodne hunnlus med eggstrenger som kommer ut fra behandling.

4.4 Utvikling til kopepoditt-stadiet etter behandling med ulike avlusingsmetoder

For overlevelsen av kopepoditter (Figur 15; prosent aktive kopepoditter per totalt antall egg i eggstrengen) ble det registrert en signifikant nedgang for prøver tatt etter behandling med Optilicer sammenlignet med FØR-prøvene ($p = 0,006$). Dette kan bety at termisk behandling reduserer larvenes robusthet slik at færre når infektivt stadium (kopepoditt). En slik nedgang ble ikke funnet for Hydrolicer og SkaMik. Ved de mekaniske behandlingene viste resultatene at utviklingen av eggstrengene sannsynligvis var lite påvirket av avlusingen. FØR-prøvene for kopepoditt-overlevelse for de ulike behandlingene var statistisk like ($p > 0,05$), noe som sier at de hadde samme utgangspunkt, men også ETTER-prøvene for de ulike behandlingstypene var statistisk like ($p > 0,05$), det kan likevel være sannsynlig at Optilicer påvirket utviklingen fram til kopepoditter mer enn Hydrolicer og SkaMik fordi det var signifikant forskjell mellom FØR-prøvene (kontroll) og ETTER-prøvene til Optilicer. Den gjennomsnittlige kopepoditt-

overlevelsen (prosent aktive kopepoditter per totalt antall egg i eggstrengen) for Optilicer FØR-prøvene var på $59,2 \pm 22,7$ %, mens overlevelsen for Hydrolicer var $49 \pm 26,1$ % og SkaMik $49 \pm 30,0$ %. Sammenlignet med ETTER-prøvene ble det funnet en gjennomsnittlig kopepoditt-overlevelse på $39 \pm 26,4$ % for Optilicer, $51 \pm 16,3$ % for Hydrolicer og $44 \pm 22,5$ % for SkaMik.

En signifikant nedgang i antall aktive kopepoditter per eggstreng (Figur 16) mellom Optilicer FØR- og ETTER-prøvene ble funnet i dette studiet ($P = 0,002$), men her hadde FØR-prøvene for Optilicer en høyere gjennomsnitt enn de tilsvarende prøvene for både Hydrolicer og SkaMik, og Hydrolicer var lavere enn både Optilicer og SkaMik. Likevel var det forskjell i antall aktive kopepoditter mellom eggstrengene som ikke hadde vært behandlet (FØR-prøvene) og de som har vært behandlet (ETTER-prøvene) når det gjelder Optilicer. Det framgår også av Figur 12 at Optilicer-behandlignene hadde flere av de lengste eggstrengene. Dette førte til et høyere antall egg i eggstrengene, noe som igjen kan forklare at antall aktive kopepoditter per eggstreng var høyere for FØR-prøvene hos Optilicer enn for de øvrige behandlingsmetodene. FØR-prøvene viste et gjennomsnittlig antall aktive kopepoditter per eggstreng for Hydrolicer på 114 ± 100 , SkaMik 190 ± 133 og Optilicer 213 ± 100 , i overensstemmelse med tidligere studier der Hamre *et al.* (2009) fant en gjennomsnittlig overlevelse på 149-218 kopepoditter per ubehandlet eggstreng. Det ble beregnet gjennomsnittlig 142 ± 65 aktive kopepoditter per eggstreng i ETTER-prøvene hos Hydrolicer, SkaMik 150 ± 98 og 129 ± 105 for Optilicer. En mulig årsak til at det ble registrert et lavere antall aktive kopepoditter ved Hydrolicer FØR-prøvene kan være den relativt kort eggstrenglengden på $12,5 \pm 4,2$ mm. Dette kan skyldes at det antakelig var et flertall av de første eggstrengparene som var samlet inn blant annet på grunn av det korte behandlingsintervallet (Tabell 4) og det er tidligere blitt målt en eggstrenglengde på første eggstrengpar på $10,2 \pm 1,36$ mm noe som samsvarer med eggstrenglengden til FØR-prøvene hos Hydrolicer (Heuch *et al.*, 2000).

Et annet resultat i denne studien som tydeligere ga en indikasjon om at Optilicer sannsynligvis påvirket utviklingen hos lakselusa, var overlevelsen fra nauplie-stadiet til kopepoditt per eggstreng (Figur 17; Prosent aktive kopepoditter per totalt antall aktive nauplier fra eggstrengen). Det ble funnet signifikant lavere overlevelse fra nauplie til kopepoditt-stadiet for ETTER-prøvene sammenlignet med FØR-prøvene for Optilicer ($p = 0,044$) og ETTER-prøvene for Optilicer var også signifikant lavere enn ETTER-prøvene til både Hydrolicer ($p = 0,02$) og SkaMik ($p = 0,03$). ETTER-prøvene hadde en gjennomsnittlig overlevelse fra nauplie til kopepoditt-stadiet for Hydrolicer på $89,7 \pm 11,9$ %, SkaMik $88,3 \pm 14,1$ og Optilicer $72,6 \pm 28,8$ %. At også FILTER-prøvene til Optilicer var signifikant lavere ($p < 0,05$) enn FILTER-prøvene for Hydrolicer og SkaMik

kan støtte oppunder at en effekt av varmtvann over tid kunne ha en påvirkning på lakselusas infektive stadium. Men FILTER-prøvene hadde store variasjoner gjennom hele datasettet noe som kan ha skyldtes bruk av ulike filtertyper på de ulike fartøyene. Denne variasjonen kunne dermed ikke tilskrives avlusingstype alene.

En mulig forklaring for forskjellen i utgangspunktet (FØR-prøvene) for resultatene i antall kopepoditter per eggstreng og overlevelse fra nauplie til kopepoditt-stadiet er en genetisk variasjon i lakselusa mellom regioner og områder. Det har blitt forsket mye på lusas genetiske variasjon og det er en usikkerhet i om det faktisk er en genetisk variasjon da noen studier beskriver en svak genetisk differanse mellom områder (Tjensvoll *et al.*, 2006) mens andre viser til ingen forskjell (Todd *et al.*, 1997) og noen viser til en signifikant forskjell i genetisk struktur mellom områder (Dixon *et al.*, 2004; Nolan og Powell, 2009; Guragain *et al.*, 2022). Det kan følgelig antydes at siden Optilicer-behandlingene foregikk i produksjonsområde 6 mens Hydrolicer og SkaMik i produksjonsområde 7, kan dette ha gjort at utgangspunktet i FØR-prøvene ble forskjellig. Men tidligere forskning har også funnet ut at lakselusa kan forflytte seg over store områder og gå på tvers av regioner (Skarðhamar *et al.*, 2018).

Det er vist i andre studier at temperaturer over 20 °C har en negativ innvirkning på infeksjonspotensial. Forsøkene er relavente for lus som har vært eksponert for slike temperaturer over en stund (Samsing *et al.*, 2016). Ved Optilicer-behandlingene ble lusa i denne studien eksponert for temperaturer mellom 28-34 °C i en relativt kort tid på 20-30 sekunder. Det kan se ut til at slike korte eksponeringstider også kan ha en virkning på spesielt overlevelsen fra nauplie-stadiet til kopepoditt-stadiet og at det antakeligvis er skallskifte mellom disse stadiene som er sensitivt og bidrar til at færre lus blir i stand til å utvikle seg. Problemer med skallskifte ved slike høye temperaturer er også rapportert av Borchel *et al.* (2018) hvor 50 % av naupliene ikke klarte skallskifte til kopepoditter etter en sjokk eksponering på 31,0 °C og at ingen av naupliene utviklet seg til kopepoditter ved kort eksponering for 32 °C og oppover.

Eventuell unøyaktighet i resultatene kan skyldes at det ble færre observasjoner av ETTER-prøver fordi var vanskelig å samle inn fra dette prøvetidspunktet, da effekten av de ulike avlusingene var relativt gode. Den største unøyaktigheten ligger nok på merdbehandlingsnivå der det var for noen lite lus å få tak i for ETTER-prøvene som kan ha påvirket dataene i et boksplo. For sammenligning av behandlingstypene var antall observasjoner for ETTER-prøvene noe mindre enn for FØR-prøvene (Tabell 5). Noen prøver gikk også tapt på grunn av lekkasje fra rørene. Mindre ETTER-prøver ga også påvirkning på beregningene for smittepotensial etter behandling (Tabell 6) med få

observasjoner da antall aktive kopepoditter per hunn lus var hentet direkte fra disse ETTER-prøvene for de ulike behandlingstypene.

4.5 Muligheten for reinfeksjon

Denne studien viste tydelig hvorfor lakselusa fortsatt er et stort problem for den norske akvakulturnæringen. Det var stor variasjon mellom de ulike merdbehandlingene ut fra hvilken effekt behandlingene hadde på kjønnsmodne hunn lus og antall fisk som ble behandlet, men antall kopepoditter som utvikles i løpet av de første dagene etter merdbehandling var fortsatt høyt. Ingen signifikant forskjell ble funnet når behandlingstypene ble sammenlignet. Variasjonen var alt fra 1,22-4,60 millioner mulige kopepoditter (Tabell 6) som kan utvikles etter en merdbehandling med en median smittepotensial for Hydrolicer på 2,63 millioner kopepoditter (19 per fisk), for SkaMik 2,38 millioner kopepoditter (16 per fisk) og Optilicer 1,81 millioner kopepoditter (17 per fisk) (Figur 17 og 18). Det er dermed ikke sagt at alle individene av kopepoditter utgjør en reell smittefare i og utenfor anlegget. Infeksjonspotensialet er også avhengig av flere faktorer som at lavere sjøtemperaturer gir dårligere suksess for lakselusa (Hamre *et al.*, 2019; Heuch *et al.*, 2000), vannstrøm som sprer kopepodittene, salinitet (Sandvik *et al.*, 2020) og det eksterne smittepotensialet i området. Med en utviklingshastighet fra klekking til kopepoditt-stadie på ca. 3-4 dager ved 10-12 °C (Hamre *et al.*, 2019) og eggstrenger som i dette studie klekket innen 7 dager, vil det kunne resultere i høy infeksjon igjen bare 10-11 dager etter behandling. Med 20 dager fra infeksjon til første eggstrengpar ved 12 °C (Heuch *et al.*, 2000) eller 37 dager som er funnet av Hamre *et al.* (2019), kan det føre til store problemer med kjønnsmodne hunn lus med eggstrenger allerede etter en til halvannen måned. Dette framgår også i Tabell 4 som viser at neste avlusing som regel forekom etter 3-5 uker.

Et viktig forhold er hvor mange kopepoditter som kan produseres etter behandling per fisk i den behandlede merda fordi dette er mer universelt og kan være overførbart til andre anlegg/behandlinger. Fra resultatene i denne studien var utslippet av kopepoditter per fisk for de ulike behandlingstypene mellom 16 og 19 individer. Variasjonen var riktignok stor mellom de ulike merdbehandlingene (Tabell 6) spesielt for Hydrolicer og SkaMik med 3 observasjoner der et avvikende resultat vil kunne påvirke estimatene. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom produsert antall kopepoditter per fisk for de ulike behandlingene, dette også fordi det var relativt få observasjoner for hver behandling (Tabell 6). Det var interessant at det for de to siste merdbehandlingene (O5M1 og O6M1) var en uvanlig lav effekt på antallet kjønnsmodne hunn lus på 40-50 % sammenlignet med de andre Optilicer-behandlingene (78,6 %) og hva som er blitt funnet

i tidligere studier (Holan *et al.*, 2017; Roth, 2016). Ved en normal avlusningseffekt for Optilicer ville både antall kopepoditter etter behandling og per fisk blitt redusert for O5M1 og O6M1 til hhv. 0,60 millioner og 1,89 millioner aktive kopepoditter per merdbehandling (4 og 17 per fisk). Dette ville dermed redusert median antall aktive kopepoditter per merdbehandling og per fisk for Optilicer-behandlingene som ville ha styrket de andre resultatene på bakgrunn av termisk påvirkning på det senere infektive stadiet (kopepoditt).

Den store mengden av lakselus-kopepoditter som her blir estimert produsert etter én lakselus behandling støttes av det økende omfanget av avlusingsbehandlinger som er gjennomført de siste årene. Om lag 3 (Walde *et al.*, 2021) til 6 (Østevik *et al.*, 2022) avlusningsbehandlinger utføres normalt per fiskegruppe (kan fordele seg over flere merder) gjennom en produksjonssyklus. Om gjennomsnittstiden i sjø for laksen er 15 måneder vil dette si at det er to og en halv måned til fem måneder mellom hver behandling. I realiteten er perioden gjerne kortere (Vedlegg B, Tabell B1) fordi den minste fisken første tiden i sjø ikke blir behandlet med mekaniske eller termiske metoder. Det samme studie fant også at det gjerne tok cirka en måned til det ble behandlet på nytt etter en behandling, noe som samsvarer med funnene i dette studiet (Vedlegg B, Tabell B1).

4.6 Videre forskning

Det ville vært interessant å gjøre forsøkene som er beskrevet på et større datamateriale og over flere produksjonsområder/regioner, dette for å få et bedre grunnlag i sammenligningen av de ulike metodene. SAMLUS-prosjektet, som denne masteroppgaven er en del av, hos Taskforce Lakselus ved NTNU vil i større grad gå i dybden og samle resultater fra større områder og flere behandlinger. En mer omfattende undersøkelse er spesielt viktig med tanke på å fastsette smittepotensialet etter behandling da våre beregninger ble gjort på relativt få observasjoner (3-5) som hadde stor variasjon. Et større datasett ville ha gjort det sikrere å konkludere om smittepotensialet er forskjellig for Hydrolicer, SkaMik og Optilicer.

De ulike velferdsutfordringene og dødelighet som er forbundet med de ulike behandlingstypene ble ikke tatt i betrakning. Spesielt er det viktig å nevne den mulige utfasingen Mattilsynet vurderer for Optilicer. En sammenkobling mellom effektene for de ulike behandlingene opp mot velferden til fisken, basert på et større datasett ville vært interessant for næringen, slik at eventuelle tiltak eller endring av behandlingene kunne vært iverksatt på et sikrere vitenskapelig grunnlag. Siden ofte bruk av én behandlingsmetode kan føre til resistensutvikling (som er sett ved bruk av medisinske behandlinger) og Optilicer utgjør nesten 60 % av de ikke-medikamentelle avlusingsmetodene som brukes i den norske akvakulturnæringene i dag, ville det også vært nyttig å gjøre forsøk på resistensutvikling for økt temperatur til lakselusa, med bioassays for varmtvannsbehandling.

5 Konklusjon

Andelen eggstrenger som klekket var lik for FØR- og ETTER-prøvene (hhv. 85-98 og 88-95 %) for de ulike behandlingstypene, men SkaMik hadde en noe høyere andel for begge disse prøvetidspunktene sammenlignet med Hydrolicer og Optilicer. Det ble ikke funnet noe forskjell i klekkeprosent (prosent nauplier per totalt antall egg i eggstrengen) for eggstrengene som hadde vært gjennom Hydrolicer, SkaMik eller Optilicer-behandling (ETTER-prøvene; 57,6-66,0 %) sammenlignet med de som ikke hadde vært behandlet (FØR-prøvene; 52,2-66,1 %). Dette vil si at behandlingene sannsynligvis ikke påvirker hvor mange eggstrenger som klekker og suksessen for klekkingen.

Den videre utviklingen til kopepoditter (prosent aktive kopepoditter per totalt antall egg i eggstrengen) var like for Hydrolicer og SkaMik i FØR- og ETTER-prøvene, mens det var en signifikant nedgang i overlevelsen til kopepoditter for ETTER-prøvene til Optilicer ($p = 0,006$). FØR-prøvene, som sier noe om utgangspunktet, for utviklingen til kopepoditter var lik for de ulike behandlingstypene. Det var et lavere antall aktive kopepoditter per eggstreng i ETTER-prøvene (129 ± 105 individer) sammenlignet med FØR-prøvene (213 ± 100 individer) for Optilicer, mens ingen forskjell ble registrert for SkaMik (FØR 190 ± 133 individer, ETTER 150 ± 98) og Hydrolicer (FØR 114 ± 62 individer, ETTER 142 ± 65). Det var også en lavere overlevelse fra nauplie til kopepoditt-stadiet (prosent aktive kopepoditter per totalt antall aktive nauplier fra eggstrengen) mellom FØR- og ETTER-prøvene for Optilicer og også sammenlignet med ETTER-prøvene for de andre behandlingstypene Hydrolicer og SkaMik. Dette betyr at mekaniske behandlinger (Hydrolicer og SkaMik) har liten, og lik, påvirkning på klekking og larveutvikling, mens termisk behandling (Optilicer) sannsynligvis har en viss påvirkning på utviklingen til kopepoditt og at det derfor er noe færre kopepoditter som kan smitte videre etter termisk behandling.

Smittepotensialet etter behandling var høyt og studien viste at det var store mengder potensielle kopepoditter som kan infistere merdene på nytt etter behandling, alt fra 1,22 millioner til 4,60 millioner (10-39 individer per fisk) per merdbehandling. Variasjonene var imidlertid store og Optilicer kan generere et noe lavere smittepress etter behandling, men ingen signifikante forskjeller ble funnet ($p > 0,05$). Dette er imidlertid noe som bør undersøkes nærmere med tanke på at overlevelsen til kopepoditt-stadiet var lavere etter Optilicer.

Referanser

- Antonsen, P. (2021) *Characterizing Hydrolicer treatment of Lepeophtheirus salmonis on farmed salmon*. Masteroppgave, NTNU.
- Barrett, L., Oppedal, F., Robinson, N. og Dempster, T. (2020) Prevention not cure: a review of methods to avoid sea lice infestations in salmon aquaculture, *Reviews in Aquaculture*, 12. <https://doi.org/10.1111/raq.12456>
- Borchel, A., Komisarczuk, A. Z., Rebl, A., Goldammer, T. og Nilsen, F. (2018) Systematic identification and characterization of stress-inducible heat shock proteins (HSPs) in the salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*), *Cell stress & chaperones*, 23(1), s. 127-139. <https://doi.org/10.1007/s12192-017-0830-9>
- Bui, S., Oppedal, F., Nola, V. og Barrett, L. T. (2020) Where art thou louse? A snapshot of attachment location preferences in salmon lice on Atlantic salmon hosts in sea cages, *J Fish Dis*, 43(6), s. 697-706. <https://doi.org/10.1111/jfd.13167>
- Dempster, T., Overton, K., Bui, S., Stien, L. H., Oppedal, F., Karlsen, Ø., Coates, A., Phillips, B. L. og Barrett, L. T. (2021) Farmed salmonids drive the abundance, ecology and evolution of parasitic salmon lice in Norway, *Aquaculture Environment Interactions*, 13, s. 237-248. <https://doi.org/10.3354/AEI00402>
- Dixon, B., Shinn, A. og Sommerville, C. (2004) Genetic characterization of populations of the ectoparasitic caligid, *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer 1837) using randomly amplified polymorphic DNA, *Aquaculture research*, 35, s. 730-741. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01095.x>
- Eisenhauer, L., Solvang, T., Alver, M., Franklin Krause, D. og Hagemann, A. (2020) Dispersal of salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis* Krøyer, 1837) egg strings from open-cage salmon farming: A neglected source for infestation dynamics, *Aquaculture research*, 51(11), s. 4595-4601. <https://doi.org/10.1111/are.14805>
- Elvertrø, L. og Westgård, A. (2021) Ikke-medikamentell avlusing i 2021 og fremover.
- Erikson, U., Solvang, T., Schei, M., Ag, S., Strand, A. og Aalberg, K. (2018) *Hydrolicer - Utredning av system, stress og velferd ved avlusing*. (2018:01081). Tilgjengelig fra: <https://sintef.brage.unit.no/sintef-xmlui/bitstream/handle/11250/2585107/Rapport%2bFHF%2bHydrolicer%2b901329.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Espedal, P. G., Glover, K. A., Horsberg, T. E. og Nilsen, F. (2013) Emamectin benzoate resistance and fitness in laboratory reared salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*), *Aquaculture*, 416-417, s. 111-118. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.001>
- Fiskeridirektoratet (2020) *Produksjonsområder*. Tilgjengelig fra: https://open-data-fiskeridirektoratet-fiskeridir.hub.arcgis.com/datasets/134cdb6728e54b64b32860970a0b50bf_0/explore?location=64.004268%2C9.930762%2C7.00.
- Forskrift om lakselusbekjempelse (2013) *Forskrift om bekjempelse av lakselus i akvakulturanlegg av 01. januar 2013 nr. 8*. Nærings- og fiskeridepartementet. Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2012-12-05-1140>.
- Gravil, H. R. (1996) *Studies on the biology and ecology of the free swimming larval stages of Lepeophtheirus salmonis (Kroyer, 1838) and Caligus elongatus Nordmann, 1832 (Copepoda: Caligidae)*. Tilgjengelig fra: <https://dspace.stir.ac.uk/handle/1893/2380#.YpUbcI0eNqs>.

- Grøntvedt, R., Jansen, P., Horsberg, T., Helgesen, K. og Tarpai, A. (2016) The surveillance programme for resistance to chemotherapeutants in salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*) in Norway 2015. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2303.4005>
- Grøntvedt, R. N., Nerbøvik, I.-K. G., Viljugrein, H., Lillehaug, A., Nilsen, H. og Gjevre, A.-G. (2015) *Termisk avlusning av laksefisk - dokumentasjon av fiskevelferd og effekt*. (Veterinærinstituttets rapportserie nr 13/2015). Veterinærinstituttet. Tilgjengelig fra: <https://www.vetinst.no/rapporter-og-publikasjoner/rapporter/2015/termisk-avlusning-av-laksefisk-dokumentasjon-av-fiskevelferd-og-effekt>.
- Guragain, P., Båtnes, A. S., Zobolas, J., Olsen, Y., Bones, A. M. og Winge, P. (2022) IIB-RAD-sequencing coupled with random forest classification indicates regional population structuring and sex-specific differentiation in salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*), *Ecol Evol*, 12(4), s. e8809. <https://doi.org/10.1002/ece3.8809>
- Hamre, L., Eichner, C., Caipang, C. M., Dalvin, S., Bron, J., Nilsen, F., Boxshall, G. og Skern-Mauritzen, R. (2013) The Salmon Louse *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae) Life Cycle Has Only Two Chalimus Stages, *PLoS One*, 8, s. e73539. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073539>
- Hamre, L. A., Glover, K. A. og Nilsen, F. (2009) Establishment and characterisation of salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer 1837)) laboratory strains, *Parasitology International*, 58(4), s. 451-460. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.parint.2009.08.009>
- Hamre, L. A., Bui, S., Oppedal, F., Skeré Mauritzen, R. og Dalvin, S. (2019) Development of the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* parasitic stages in temperatures ranging from 3 to 24°C. , *Aquaculture Environment Interactions*, 11, s. 429-443. <https://doi.org/10.3354/aei00320>
- Hersoug, B., Olsen, M. S., Gauteplass, A. Å., Osmundsen, T. C. og Asche, F. (2021) Serving the industry or undermining the regulatory system? The use of special purpose licenses in Norwegian salmon aquaculture, *Aquaculture*, 543, s. 736918. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736918>
- Heuch, P. A., Nordhagen, J. R. og Schram, T. A. (2000) Egg production in the salmon louse [*Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer)] in relation to origin and water temperature, *Aquaculture research*, 31(11), s. 805-814. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00512.x>
- Holan, A. B., Roth, B., Breiland, M. S. W., Kolarevic, J., Hansen, Ø. J., Iversen, A., Hermansen, Ø., Gjerde, B., Hatlen, B., Mortensen, A., Lein, I., Johansen, L.-H., Noble, C., Gismervik, K. og Espmark, A. s. M. (2017) *Beste praksis for medikamentfrie metoder for lakseluskontroll (MEDFRI)*. (Nofima rapport nr. 10/2017). Tilgjengelig fra: <https://nofima.brage.unit.no/nofima-xmlui/bitstream/handle/11250/2443555/Rapport+10-2017.pdf?sequence=2>.
- Hvas, M., Folkedal, O. og Oppedal, F. (2020) Fish welfare in offshore salmon aquaculture, *Reviews in Aquaculture*, 13. <https://doi.org/10.1111/raq.12501>
- Igboeli, O. O., Burka, J. F. og Fast, M. D. (2014) *Lepeophtheirus salmonis*: a persisting challenge for salmon aquaculture, *Animal Frontiers*, 4(1), s. 22-32. <https://doi.org/10.2527/af.2014-0004>

- Iversen, A., Hermansen, Ø., Nystøyl, R. og Hess, E. (2017) *Kostnadsutvikling i lakseoppdrett - med fokus på fôr-og lusekostnader*. (Nofima rapportserie 24/2017). Tilgjengelig fra: <https://nofimaas.sharepoint.com/sites/public/Cristin/Rapport%2024-2017.pdf?ga=1>.
- Jevne, L. S. og Reitan, K. I. (2019) How are the salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis* Krøyer, 1837) in Atlantic salmon farming affected by different control efforts: A case study of an intensive production area with coordinated production cycles and changing delousing practices in 2013-2018, *J Fish Dis*, 42(11), s. 1573-1586. <https://doi.org/10.1111/jfd.13080>
- Johnsen, I. A., Harvey, A., Sævik, P. N., Sandvik, A. D., Ugedal, O., Ådlandsvik, B., Wennevik, V., Glover, K. A. og Karlsen, Ø. (2020) Salmon lice-induced mortality of Atlantic salmon during post-smolt migration in Norway, *ICES Journal of Marine Science*, 78(1), s. 142-154. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsaa202>
- Microsoft Corporation (2021) Microsoft Excel for Mac (16.57. utg.). Tilgjengelig fra: <https://office.microsoft.com/excel>.
- Misund, B. (2021) Fiskeoppdrett. Store norske leksikon. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/fiskeoppdrett> (Hentet: 26.03.2022).
- Nersten, M., Reitan, K. I., Båtnes, A. S. og Guttu, M. (2021) *Fate of Lepeophtheirus salmonis and Caligus elongatus During Farmed Salmon Crowding*. Masteroppgave, NTNU.
- Nilsson, J., Moltumyr, L., Madaro, A., Kristiansen, T. S., Gåsnes, S. K., Mejdell, C. M., Gismervik, K. og Stien, L. H. (2019) Sudden exposure to warm water causes instant behavioural responses indicative of nociception or pain in Atlantic salmon, *Veterinary and Animal Science*, 8, s. 100076. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.vas.2019.100076>
- Nolan, D. V. og Powell, R. (2009) Geographic and temporal genetic structure in *Lepeophtheirus salmonis* from four salmon farms along the northwest and west coasts of Ireland: results from a microsatellite analysis, *Hydrobiologia*, 617(1), s. 55-63. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1007/s10750-008-9525-7>
- Overton, K., Dempster, T., Oppedal, F., Kristiansen, T., Gismervik, S. og Stien, L. (2018) Salmon lice treatments and salmon mortality in Norwegian aquaculture: a review, *Reviews in Aquaculture*, 11. <https://doi.org/10.1111/raq.12299>
- Robinson, N. og Hayes, B. (2008) Modelling the use of gene expression profiles with selective breeding for improved disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*), *Aquaculture*, 285(1), s. 38-46. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.08.016>
- Roth, B. (2016) *Avlusing av laksefisk med Optilice: Effekt på avlusing og fiskevelferd*. (Nofima rapport nr. 59/2016). Tilgjengelig fra: <https://docplayer.me/26741162-Avlusing-av-laksefisk-med-optilice-effekt-pa-avlusing-og-fiskevelferd.html>.
- RStudio Team (2021) RStudio: Integrated Development for R (R.app GUI 1.77. utg.). Boston: RStudio. Tilgjengelig fra: <http://www.rstudio.com/>.
- Samsing, F., Oppedal, F., Dalvin, S., Johnsen, I. A., Vågseth, T. og Dempster, T. (2016) Salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*) development times, body size, and reproductive outputs follow universal models of temperature dependence, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 73, s. 1841-1851.

- Sandvik, A. D., Johnsen, I. A., Myksvoll, M. S., Sævik, P. N. og Skogen, M. D. (2020) Prediction of the salmon lice infestation pressure in a Norwegian fjord, *ICES Journal of Marine Science*, 77(2), s. 746-756. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsz256>
- Schneider, C. A., Rasband, W. S. og Eliceiri, K. W. (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis, *Nature Methods*, 9(7). <https://doi.org/doi:10.1038/nmeth.2089>
- Schram, T. A. (1993) *Supplementary descriptions of the developmental stages of Lepeophtheirus salmonis (Kroyer, 1837) (Copepoda: Caligidae)*.
- Sjømat Norge (2020) Tiltaksveileder kontroll med lakselus og skottelus. Tilgjengelig fra: <https://lusedata.no/wp-content/uploads/2020/01/2120.01.20-Tiltaksveileder-Lakselus-og-skottelus.pdf> (Hentet: 24.05.2022).
- SkaMik AS (2021) *SkaMik 1.5*. Tilgjengelig fra: <https://skamik.no/skamik15/> (Hentet: 29.03 2022).
- Skarðhamar, J., Albretsen, J., Sandvik, A. D., Lien, V. S., Myksvoll, M. S., Johnsen, I. A., Asplin, L., Ådlandsvik, B., Halttunen, E. og Bjørn, P. A. (2018) Modelled salmon lice dispersion and infestation patterns in a sub-arctic fjord, *ICES Journal of Marine Science*, 75(5), s. 1733-1747. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsy035>
- Smir (2021) *Skånsom avlusing, Hydrolicer*. Tilgjengelig fra: <https://smir.no/produkter/hydrolicer/> (Hentet: 30.03.2022).
- Sommerset, I., Walde, C. S., Bang Jensen, B., Wiik-Nielsen, J., Bornø, G., Oliveira, V., Haukaas, A. og Brun, E. (2022) *Fiskehelserapporten 2021*. (Veterinærinstituttet rapportserie nr 2a/2022). Tilgjengelig fra: <https://www.vetinst.no/rapporter-og-publikasjoner/rapporter/2022/fiskehelserapporten-2021>.
- Stien, L., Seternes, T., Bui, S., Nilsson, J., Madaro, A., Patel, D. M., Brinchmann, M. F. og Iversen, M. H. (2022) Effekt på dyrevelferd av gjentatt termisk behandling med ulik Δt , i 2022, L. (red.). Tilgjengelig fra: <https://www.fhf.no/media/4109/22-stien-hi.pdf>.
- Szetey, A., Wright, D., Oppedal, F. og Dempster, T. (2021) Salmon lice nauplii and copepodids display different vertical migration patterns in response to light, *Aquaculture Environment Interactions*, 13. <https://doi.org/10.3354/aei00396>
- Thorvaldsen, T., Frank, K. og Sunde, L. (2018) Lusetellingsmetoder i lakseoppdrett, *SINTEF rapport nr. 483/2018*. Tilgjengelig fra: <https://sintef.brage.unit.no/sintef-xmlui/bitstream/handle/11250/2496606/Lusetellingsmetoder%20i%20lakseoppdrett2.pdf?sequence=7&isAllowed=y>.
- Tjensvoll, K., Glover, K. A. og Nylund, A. (2006) Sequence variation in four mitochondrial genes of the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis*, *Dis Aquat Organ*, 68(3), s. 251-259. <https://doi.org/10.3354/dao068251>
- Todd, C. S., Walker, A., Wolff, K., Northcott, S. J., Walker, A. F., Ritchie, M. G., Hoskins, R. A., Abbott, R. J. og Hazon, N. (1997) Genetic differentiation of populations of the copepod sea louse *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer) ectoparasitic on wild and farmed salmonids around the coasts of Scotland: Evidence from RAPD markers, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 210, s. 251-274. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(96\)02696-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0022-0981(96)02696-2)
- Walde, C., Bang Jensen, B., Pettersen, J. og Stormoen, M. (2021) Estimating cage-level mortality distributions following different delousing treatments of Atlantic salmon (*salmo salar*) in Norway, *Journal of fish diseases*, 44. <https://doi.org/10.1111/jfd.13348>

- Westgård, A., Stensby, S., Staven, F. og Kraugerud, M. (2021) Fiskevelferd, adferd og effekt ved lusebehandling med SkaMik 1.5, *Norsk Veterinær Tidsskrift*, 9. Tilgjengelig fra: https://nvt.vetnett.no/journal/2021/9/m-241/Fiskevelferd,_atferd_og_effekt_ved_lusebehandling_med_SkaMik_1.5.
- Østevik, L., Stormoen, M., Evensen, Ø., Xu, C., Lie, K.-I., Nødtvedt, A., Rodger, H., Skagøy, A., Manji, F. og Alarcón, M. (2022) Effects of thermal and mechanical delousing on gill health of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), *Aquaculture*, 552, s. 738019. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738019>
- Aaen, S. M., Helgesen, K. O., Bakke, M. J., Kaur, K. og Horsberg, T. E. (2015) Drug resistance in sea lice: a threat to salmonid aquaculture, *Trends in Parasitology*, 31(2), s. 72-81. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.12.006>

Vedlegg

Vedlegg A: Estimering av eggstørrelse

Tabell A1: Måling av eggstørrelse (μm /egg) i 10 utvalgte eggstrengpar. Lengden av 30 egg (mm) ble målt 4 ganger på hver av eggstrengene og omgjort til μm /egg.

		1.Telling	2.Telling	3.Telling	4.Telling	5.Telling	6.Telling	7.Telling	8.Telling
Eggstrengpar	Antall egg	Måling(μm /egg)	Måling(μm /egg)	Måling(μm /egg)	Måling(μm /egg)	Måling(μm /egg)	Måling(μm /egg)	Måling(μm /egg)	Måling(μm /egg)
1	30	54,4	56,4	57,6	58,5	54,1	57,8	57,0	53,4
2	30	58,1	54,4	55,7	54,2	55,9	56,1	56,5	54,2
3	30	60,5	58,4	56,8	55,7	55,0	61,8	62,2	58,3
4	30	57,2	55,4	58,0	57,6	55,4	54,0	53,8	52,5
5	30	56,1	58,1	57,0	53,3	54,9	53,2	57,4	56,1
6	30	54,8	55,9	55,4	57,5	58,4	56,5	54,3	57,1
7	30	59,4	55,6	55,2	54,6	58,4	57,4	60,7	59,9
8	30	56,4	61,2	57,7	54,9	59,0	59,1	59,0	55,7
9	30	58,2	59,8	56,4	59,9	57,3	60,8	58,0	56,1
10	30	56,1	56,1	54,9	60,8	58,2	59,8	60,9	54,6

Tabell A2: Gjennomsnittlig eggstørrelse (μm /egg) for 10 utvalgte eggstrengpar og totalt for de 10. Standardavvik, median, konfidensintervall (95 %) og variasjonskoeffisient (%) basert på målingene i Tabell A1.

Eggstrengpar	Gjennomsnitt (μm /egg)	Standardavvik	Median	Konfidens intervall (95 %)	Variasjonskoeffisient (%)
1	56,1	1,93	56,7	0,42	3,44
2	55,6	1,35	55,8	0,30	2,43
3	58,6	2,72	58,3	0,60	4,65
4	55,5	1,99	55,4	0,44	3,58
5	55,8	1,82	56,1	0,40	3,26
6	56,2	1,40	56,2	0,31	2,48
7	57,7	2,31	57,9	0,51	4,00
8	57,9	2,11	58,4	0,46	3,64
9	58,3	1,71	58,1	0,37	2,92
10	57,7	2,58	57,2	0,57	4,47
TOTAL	56,9	2,23	56,7	0,49	3,92

Tabell A3: Beregninger av forskjellen mellom eggstrengparene og totalt for alle eggstrengparene. Forskjell i prosent utregnet fra estimert gjennomsnittlig eggstørrelse for hvert enkelt eggstrengpar sammenlignet med estimert gjennomsnittlig eggstørrelse for alle 10 eggstrengparene på antall egg.

Eggstrengpar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Eggstreng 1 lengde (mm)	13,3	14,1	19,9	22,8	22,8	16,2	9,3	13,4	15,3	17,5
Eggstreng 2 lengde (mm)	6,4	19,2	20,3	18,7	18,7	16,9	15,8	13,9	15,7	17,1
Eggstrengpar total lengde (mm)	19,8	33,3	40,2	41,5	41,5	33,0	25,0	27,3	31,0	34,6
Eggstreng 1 antall egg	238	254	340	411	409	287	161	231	262	303
Eggstreng 2 antall egg	115	344	347	337	335	300	274	239	269	297
Eggstrengpar total antall egg	347	585	706	729	729	580	440	479	544	608
Gjennomsnittlig antall egg (bruk av gjennomsnittet for eggstrengparet)	352	598	687	747	744	587	434	471	531	600
Gjennomsnittlig antall egg (bruk av gjennomsnittet for alle eggstrengparene)	347	585	706	729	729	580	440	479	544	608
% forskjell i gjennomsnitt	1,43	2,34	-2,80	2,59	2,11	1,24	-1,23	-1,63	-2,38	-1,26

Vedlegg B: Bakgrunnsdata for merdbehandlingene

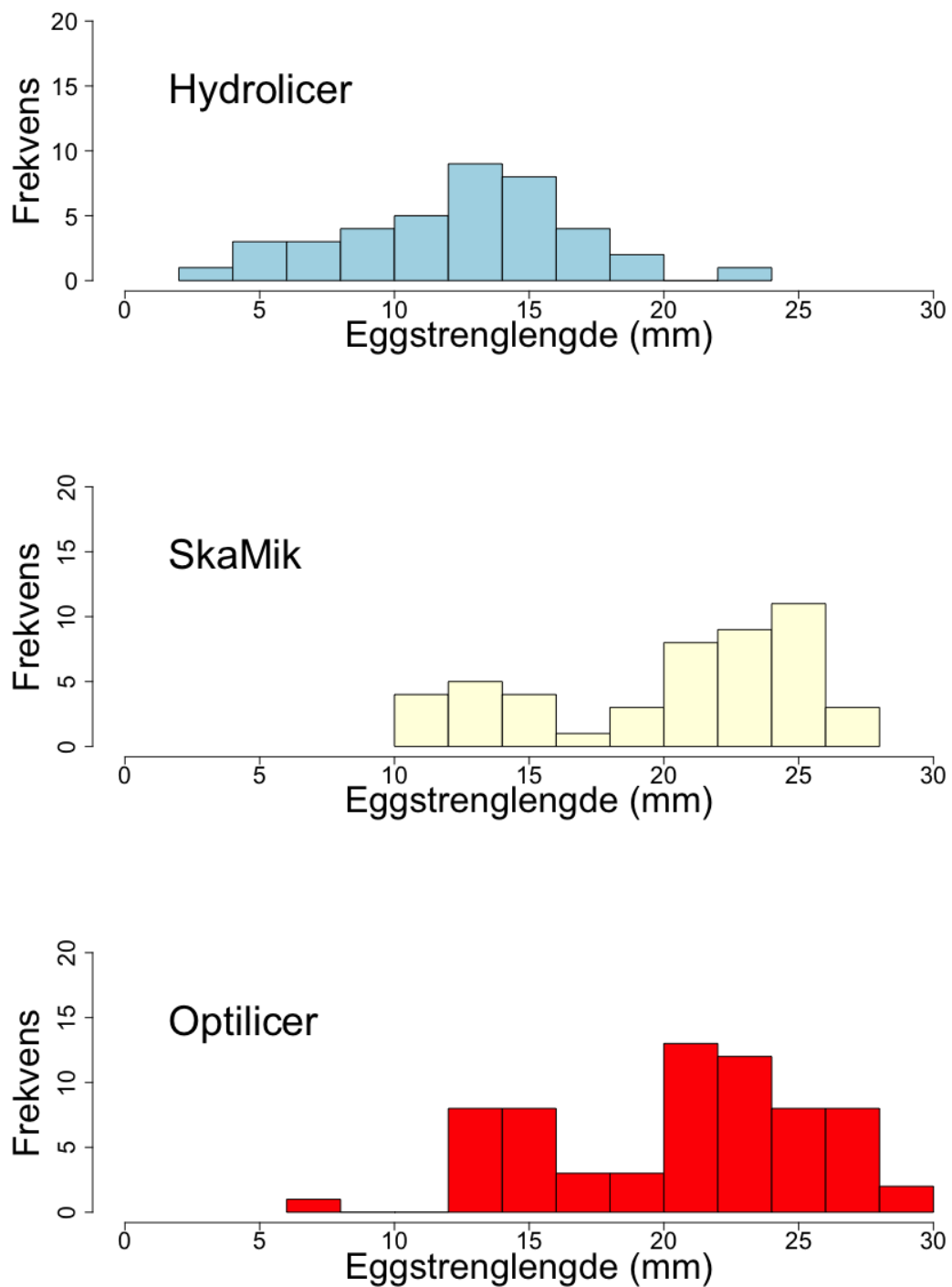
Tabell B1: Oversikt over behandlinger utført på de forskjellige merdene vi har undersøkt. Påfølgende avlusing viser den neste avlusingen etter avlusingen som det ble samlet inn prøver fra. Uketall er for 2021

ID	Tidligere avlusinger					Påfølgende avlusing
H1M1	Uke 25-Uke 26	Mekanisk	Uke 35-36	Mekanisk	Uke 40	Mekanisk
H1M2	Uke 25-Uke 26	Mekanisk	Uke 35-36	Mekanisk	Uke 40	Mekanisk
H1M3	Uke 25-Uke 26	Mekanisk	Uke 35-36	Mekanisk	Uke 40	Mekanisk
H2M1	Uke 29	Medisin	Uke 35-36	Mekanisk	Uke 39	Mekanisk
				Uke 41-42	Medisin	Uke 47
						Uke 7 (2022)
						NA
S1M1	Uke 26-27	Medisin				Uke 42
S1M2	Uke 26-27	Medisin				Mekanisk
S2M1	Uke 31	Mekanisk	Uke 38	Mekanisk		Uke 42
S2M2	Uke 31	Mekanisk	Uke 35	Mekanisk		Mekanisk
S3M1	Uke 34	Mekanisk				Ingen
O1M1	Uke 23	Ferskvann	Uke 26	Ferskvann	Uke 30	Ferskvann
O1M2	Uke 23	Ferskvann	Uke 26	Ferskvann	Uke 30	Ferskvann
O2M1	Uke 25	Ferskvann	Uke 29	Ferskvann	Uke 32	Uke 34
O3M1	Uke 25	Ferskvann	Uke 29	Ferskvann	Uke 32	Uke 34
O4M1	Uke 22	Ferskvann	Uke 26	Ferskvann	Uke 30	Uke 33-36
O5M1	Uke 28	Mekanisk	Uke 31	Ferskvann	Uke 35	Uke 36
O6M1	Uke 32-33	Medisin	Uke 38	Mekanisk	Uke 40	Uke 42
						Uke 44
						Uke 50
						Mekanisk

Tabell B2: Oversikt over antall observasjoner fra de ulike prøvetidspunktene per merdbehandling. Antall observasjoner er for de ulike delene av innsamling, telling av nauplier og telling av kopepoditter.

ID	N FØR-prøver			N FILTER-prøver			N ETTER-prøver		
	Innsamling	Nauplie	Kopepoditt	Innsamling	Nauplie	Kopepoditt	Innsamling	Nauplie	Kopepoditt
H1M1	10	10	9	10	9	8	0	0	0
H1M2	10	9	7	5	4	1	8	8	8
H1M3	10	8	6	10	8	4	5	3	3
H2M1	10	10	8	10	10	9	9	9	7
S1M1	8	8	0	8	8	0	7	7	0
S1M2	10	10	0	10	10	0	10	10	0
S2M1	14	13	12	13	11	8	10	10	9
S2M2	7	7	7	15	15	14	6	6	6
S3M1	9	9	7	10	10	10	4	4	4
O1M1	10	8	4	0	0	0	10	8	5
O1M2	10	8	4	0	0	0	10	9	5
O2M1	10	7	4	14	14	4	0	0	0
O3M1	6	1	5	10	7	9	0	0	0
O4M1	10	10	7	10	10	3	7	7	6
O5M1	10	9	7	0	0	0	11	11	9
O6M1	10	10	8	10	10	3	10	10	9

Vedlegg C: Figurer over eggstrenglengde



Figur C1: Histogram over eggstrenglengden (mm) for FØR-prøvene for de ulike behandlingstypene. Frekvensen er hvor mange observasjoner som er i de ulike intervallene for eggstrenglengde.

