

# Ferskvannsbehandling av lakselus

**Odd Vetle Haarsaker**

Bacheloroppgave for graden

**Bachelor i Havbruksdrift og ledelse**

**AK224F**



Fakultet for biovitenskap og akvakultur

Universitetet i Nordland

30.Mai 2013

## Forord

Formålet med denne oppgaven er å se på hvordan lakselusa blir påvirket av ferskvann, samt mulighetene for en kommersiell behandlingsmetode ved bruk av ferskvann. Etter tre år som student og ca. et halvt år med erfaring fra settefisk- og matfiskanlegg, ble jeg interessert i lakselus og jeg fikk lyst til å se nærmere på alternative behandlingsmetoder mot lakselus, uten bruk av legemidler og de miljømessige ulempene det fører med seg.

I samarbeid med Gildeskål forskningsstation AS (GIFAS), skal jeg gjennomføre en ekperimentiell oppgave, hvor jeg skal utføre bioassay med lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) for å se nærmere på hvordan lusa reagerer på forskjellig saltholdighet i vannet, og hvor lang tid det tar før lusa blir påvirket eller død.

Jeg har også fått delta på et kommersialiseringsforsøk innen ferskvannsbehandling med brønnbåt.

Jeg ønsker også å rette en stor takk til GIFAS som har gjort det mulig å gjennomføre denne oppgaven. Og selvfølgelig min veileder Patrick Reynolds fortjener en stor takk for alt av arbeid og veiledningen han har gitt meg gjennom denne oppgaven.

Odd Vetle Haarsaker

---

## Sammendrag

Lakselusa fører til ca. 500 millioner kroner i tap i forhold til dødelighet, tap av tilvekst, samt nedgradering av kvalitet og utgifter i forhold til behandling og arbeid. Og vi opplever et økende resistensproblem med lakselusa.

Jeg skal med denne eksperimentielle oppgaven se nærmere på ferskvann som behandlingsmetode mot lakselus.

Jeg skal evaluere og registrere, i samarbeid med GIFAS, hvordan preadulte hunnlus (*Lepeophtheirus salmonis*) reagerer på ulike saliniteter gjennom bruk av bioassay.

Samt være med på å gjennomføre og analysere resultater fra et semi – kommersielt forsøk med brønnbåt fylt med ferskvann.

Det ble brukt preadulte hunnlus i bioassay, på grunn av lave lusetall og lite kjønnsmoden hunnlus. Resultatet viste at all preadult hunnlus døde etter en time eksponering for ferskvann. All lus som var i kontrollgruppen med sjøvann overlevde ikke, slik at man kan anta at lusa var noe svekket. Man kan ikke konkludere hundre prosent på dette resultatet.

Det totale resultatet fra brønnbåtforsøket viste en signifikant nedgang på 1.29 lus per fisk før behandling (alle livsstadier) til 0.05 lus per fisk etter eksponering for ferskvann i overkant av tre timer. Det vil si en nedgang på 97%. Kjønnsmoden hunnlus hadde en signifikant nedgang på 0.39 lus per fisk før behandling, til 0.03 lus etter eksponering for ferskvann.

Konklusjonen er at ferskvann viser et klart potensial for å brukes som en del av en integrert tilnærming for å kontrollere lakselus – infeksjoner. Med en kombinasjon av kommersielle legemidler mot lus og ferskvann kan man oppnå en kortere behandlingstid og større dødelighet på kjønnsmoden lus. Muligheten for å kunne kommersialisere en slik behandlingsmetode avhenger mye av tilgjengeligheten av brønnbåt, god og stor nok ferskvannskilde, og om det er mulig å blande kommersielle legemidler uten at det oppstår problemer.

## **Innholdsfortegnelse**

1.0 Innledning.....	7
1.1 Målsetning.....	9
2.0 Metode.....	10
2.1 Bioassay.....	10
2.2 Brønnbåt.....	13
2.3 Data og statestikk.....	15
3.0 Resultat.....	15
3.1 Innledning.....	15
3.2 Bioassay.....	15
3.3 Brønnbåt.....	17
4.0 Diskusjon.....	20
4.1 Bioassay.....	20
4.2 Brønnbåt.....	21
5.0 Konklusjon.....	22
6.0 Referanser.....	24
Vedlegg.....	26

**Figurer:**

Figur 1: Livssyklusen til lakselusa (lepeophteirus salmonis).....	7
Figur 2: Levende, redusert og død lus ved 20ppt.....	15
Figur 3: Levende, redusert og død lus ved 10ppt.....	16
Figur 4: Lus eksponert for ferskvann.....	16
Figur 5: Gjennomsnittlig antall fast lus av L. Salmonis per fisk Etter hver behandling.....	17
Figur 6: Gjennomsnittlig antall bevegelig lus av L. Salmonis per fisk registrert etter hver behandling.....	18
Figur 7: Gjennomsnittlig antall kjønnsmoden hunnlus av L. Salmonis per fisk registrert etter hver behandling.....	18
Figur 8: Total gjennomsnittlig antall lus (alle livsstadier) av L. Salmonis per fisk registrert etter hver behandling.....	19
Figur 9: prosentvis reduksjon av lakselus L. Salmonis, samt total prosentvis reduksjon.....	19

**Bilder:**

Bilde 1: Sjøvann og bedøvelse.....	10
Bilde 2: Arbeidsplass ved innhøsting av lus.....	11
Bilde 3: Lus som ble innsamlet.....	12
Bilde 4: Kjøleskap med bioassay bokser ved 4°C.....	12
Bilde 5: Sorteringsinnretning, laks.....	13
Bilde 6: Opp fra merd og ned i kammer.....	14
Bilde 7: Laks etter behandling.....	14
Bilde 8: ”Mini” merder som fisken ble pumpet ut i etter behandling.....	14
Bilde 9: Telling av lus.....	14

**Vedlegg**

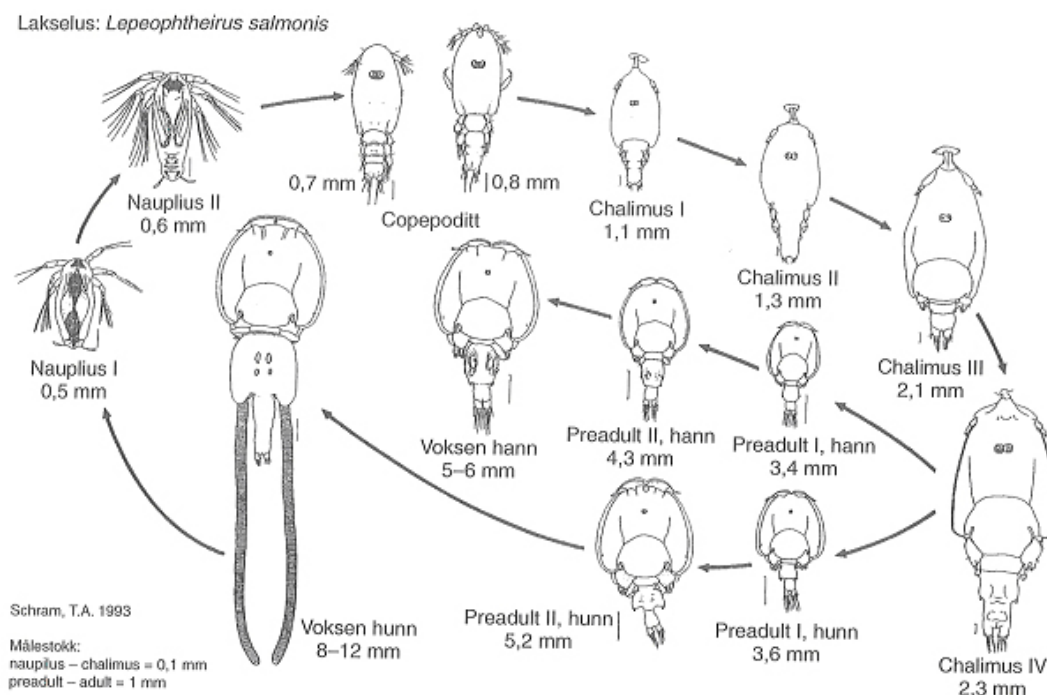
Appendiks 1: Resultater fra bioassay.....	26
Appendiks 2: Analyse resultater brønnbåt forsøk.....	27

## 1.0 Innledning

Lakselusa (*Lepeophtheirus salmonis*) er en av de største utfordringene innen norsk oppdrett, og har blitt forsket på siden 1987 av havforskningsinstituttet (Boxaspen, K.K., 1997.).

Lakselusa er en art innen hoppekreps som kun benytter laksefisk som vert for å overleve og formere seg i saltvann. Lakselusa gjennomgår ti livsstadier i løpet av sin levetid. Mellom hvert livsstadium gjennomgår organismen et skallskifte. Lusas livssyklus kan deles inn i tre hoveddeler (Schram T.A. 1993). Første hoveddelen er frittsvømmende, hvor det er tre stadier. Her går lusa fra larver (Nauplius I & II) som ikke kan bevege seg mot vannstrømmene, til copepoditt som kan bevege seg fritt og finne en passende vert (Heuch 1995, Heuch et al. 1995, Heuch et.al. 2000)

Den neste hoveddelen er da fastsittende, hvor det er fire stadier (Chalimus I, II, III & IV). Her spiser lusa slim, skjell og blod fra fisken slik at den vokser og kan gå inn i det preadulte stadiet (Kabata, Z.1974). Dette blir også kalt det bevegelige stadiet. Nå kan lusa bevege seg fritt på fisken og hoppe fra vert til vert. Det bevegelige stadiet innebærer preadult I & II og adult/kjønnsmoden lus (Heuch, 2009; Boxaspen, 1997).



**Figure 1: Livssyklusen til lakselusa. (Schram T.A.1993)**

Når hann- og hunnlusa er kjønnsmoden parer de seg og hunnlusa produserer to eggstrenger, hvor en eggstreng inneholder alt fra 200 - 800 egg. Hunnlusa kan bli kjønnsmoden flere ganger i løpet av sin voksne alder, opptil ti ganger (Heuch et al., 2000).

I følge havforskningsinstituttet (20.05.2011) fører lakselusa til ca. 500 millioner kroner i tap i forhold til dødelighet, tap av tilvekst, samt nedgradering av kvalitet. Det meste på grunn av stress (kortisol) og problemer med osmosereguleringen hos fisken, som gjør at immunforsvaret reduseres (Bjørn & Finstad, 1997). Samt utgifter i forhold til antilusemiddel og arbeidstimer til avlusning.

Andre negative effekter som kommer av lakselusa som ikke er lett å tallfeste, er antallet sekundære infeksjoner som kommer av sår fra lusa. Samt at oppdrett fører til større populasjon av lakselus, som igjen fører til økt antall lus på vill laks (Bjørn et al., 2005; Heuch et al., 2005). Dette har også bidratt til et negativt fokus på oppdrett i media.

I dag er hoved metoden for avlusning av oppdrettslaks bruk av kjemiske midler.

I følge Folkehelseinstituttet (2013) opplever vi et økende resistensproblem med lakselusa. Ser man på salgstillene for legemidler mot lakselusa I 2012, viser det at bruk av emamektin (Slice®) har gått ned, samtidig som man ser en økning i salg av andre midler mot lakselus (Folkehelseinstituttet, 2013). Dette tyder på at virkningen av Slice® har gått ned, slik at man må ty til andre "eldre" behandlingsmetoder (diflubenzuron, Hydrogen peroksid, teflubenzuron).

Årsaken til at man ser denne utviklingen er hovedsakelig at man behandler ofte med samme lusemiddel, uten optimalt resultat, som fører til selektering og nedsatt følsomhet, i verste fall resistensutvikling (Horsberg, 2009). De siste årene har det også vært en meget stor økning i produksjon, som fører til at smittepresset bare øker i forhold til lakselus. Lusa har fått en enklere jobb i å finne seg en vert, og med lakselusa sin relativt enkle livssyklus fører dette til økt smittepress og spredningspotensial (Boxaspen, 2009).

Med den utviklingen som vi ser nå, er det utrolig viktig at man utvikler nye behandlingsmetoder, helst ikke-medikamentelle metoder, slik at man slipper faren for resistent utvikling. Ved lusemøtet 4. Mars 2013 på Værnes ble det diskutert mange nye ikke-



medikamentelle metoder, noen av dem var vaksine, strøm, laser og mange andre høyt teknologiske og nyskapende metoder som vi sikkert får se mer av i fremtiden. I dag brukes hovedsakelig leppefisk som en biologisk avlusningsmetode, og det har blitt gjort forsøk (Kvenseth et al., 2002) som viser at leppefisken er i stand til å beite ned lusebestander før de blir kjønnsmodne. Men det er også en del utfordringer med bruk av leppefisk. Hvis det for eksempel er lite lus og nøtene er beitet rene, kan leppefisken begynne å skade finnestråler eller øynene hos laksen, eller begynne å spise laksefôr. Dette krever nøye kontroll på antallet leppefisk kontra antall lus og laks i merden (Kvenseth et al., 2003).

En annen potensial biologisk behandlingsmetode mot lakselus er bruk av ferskvann. Hvis man ser på forskjellige laboratorier og feltbaserte studier som undersøker effekten av lav salinitet på lakselusa, kommer det fram at lav salinitet ser ut til å redusere nivåene av lakselus (Heuch 1995, Tucker et al. 2000, Bricknell et al. 2006, Heuch et al. 2009). Ferskvann er altså en behandlingsmetode som kan ha potensiale til å redusere bruken av kjemiske legemiddelbehandlinger mot lakselusa, og dermed forhindre og utsette videre resistensutvikling hos lusa.

Mange av legemidlene som brukes mot lakselus i dag har også miljøtoksiske effekter. Og med et stadig større fokus på en mer bærekraftig næring kan ferskvann være en viktig bidragsyter. Hvis et selskap kan dokumentere ikke – medikamentelle avlusningsmetoder og minimal miljøpåvirkning gjennom hele produksjonen, kan det føre til økt markedsfordel, mye på grunn av stadig høyere krav fra innkjøpere, men også fordi det kan medbringe et bedre rykte blant folk og media.

### **1.1 Målsetning**

Det jeg vil oppnå med denne oppgaven, i samarbeid med GIFAS, er følgende to punkter:

- Evaluere og registrere hvordan preadulte hunnlus (*Lepeophtheirus salmonis*) reagerer på ulike saliniteter gjennom bruk av bioassay.
- Se på muligheten for å kommersialisere ferskvann som behandlingsmetode mot lakselus, ved bruk av brønnbåt.

Hovedårsaken til at jeg valgte å fokusere på preadult hunnlus i min bioassay var på grunn av lave lusetall, spesielt adulte hunnlus. I utgangspunktet var jeg mer interessert i å se nærmere på adulte hunnlus, på grunn av at tidligere forsøk gjennomført av GIFAS har vist at adulte hunnlus virket mindre følsomme mot ferskvann enn hannlus.

## 2.0 Metode

### 2.1 Bioassay

#### Fisk

Atlantisk laks med en gjennomsnittsvekt på 200g ble brukt til å samle inn lakselus til bioassay. Fisken ble transportert fra Oldervika stor skala lokalitet i november 2012, til GIFAS sitt små skala anlegg ved Langholmen. Hele gruppen med fisk stammer fra samme gruppe fisk og deler samme genetiske og miljømessige bakgrunnen. Disse fiskene har ikke blitt brukt i tidligere forsøk.

Fisken ble holdt i fire 5x5x5m stål merder.

#### Bedøving og innsamling av lus

Preadulte hunnlus av typen *Lepeophtheirus salmonis* ble samlet inn fra fisken dagen før bioassay skulle gjennomføres. I en av stålmerdene ble nota hevet og splittet slik at det ble enklere å få tak i fisken. Mellom fem eller syv fisk ble håvet opp fra merden opp i en beholder som inneholdt ferskt sjøvann (bilde 1).

Benzoak ble tilført sjøvannet med en konsentrasjon på 80 mg/l for å indusere anestesi.



**Bilde 1: Sjøvann & bedøvelse**

Med en gang vi så fisken var tilstrekkelig bedøvd, tok vi en og en fisk opp av beholderen og begynte å se etter lus. Alle preadulte hunnlus som satt på fisken ble fjernet forsiktig og lagt i en liten beholder som inneholdt sjøvann.

Dette ble gjentatt helt til vi fikk ønsket antall lus.

Den bedøvde fisken ble plassert tilbake i stål merden. Denne fisken ble holdt separat fra den andre gruppen fisk, og overvåket fram til bedøvelsen begynte å gi seg. Lusa som vi samlet hadde vi til slutt i en stor beholder med tilstrekkelig luftet sjøvann ved 4°C til neste dag.



**Bilde 2: Grønn beholder med sjøvann og bedøvelsesmiddel. Arbeidsbord og liten beholder med sjøvann for lusa vi plukker.**

## Bioassays

Før vi gjennomførte bioassay ble minimum 20 preadulte hunnlus ført over i en spesiallaget bioassay boks. Hver boks har to separate rom hvor vi hadde minimum 10 lakselus i hvert rom.



**Bilde 3: Lus som ble innsamlet.**

Bare individer med normal oppførsel ble brukt i bioassay. Vi gjennomførte to bioassays samtidig ved fire ulike saliniteter (0 ppt; 10 ppt; 20 ppt; og 33 ppt) med en vanntemperatur på 4°C, for å gjenskape nåværende normal sesongmessige vanntemperaturer.

Effekten av hver forskjellige salinitet på overlevelses statusen til lusa ble evaluert etter 30 minutter eksponering, og igjen etter 1, 2 og 3 timer eksponering.

Responen fra hver lakselus ble evaluert ved slutten av eksponeringstidens periode. Responen ble evaluert som følger:

**Levende:** Normal oppførsel, svømmer raskt avgårde ved berøring (-i en rett linje). Kan ikke feste seg på veggen av boksen.

**Påvirket:** Ikke normal oppførsel. Svømmingen går sakte, noen ganger i sirkel. Problemer med å feste seg på veggen i boksen – de mister festet hvis man berører lusa

**Død:** Ikke noe respons selv ved forsiktig berøring.

Ved slutten av alle eksponeringstidene og respons evalueringene, ble lusa ført over til rent og godt luftet sjøvann. Etter en time i sjøvann ble lusa på nytt evaluert.



**Bilde 4: kjøleskap med bioassay bokser ved 4°C.**

## 2.2 Brønnbåt

### Fisk

Fisken som vi brukte var 0+ smolt på 11G atlantisk laks produsert av Sundsfjord smolt AS, og ankom GIFAS i september 2011 med en gjennomsnittsvekt på 75g.

Fisken er fra Aqua Gen stammen og har blitt vaksinert med Pentium Forte Plus. Fisken ble levert til GIFAS sin kommersielle lokalitet ved Leirvika og deretter transportert videre til småskala anlegget ved Langholmen, hvor fisken ble brukt til fôringsforsøk.

Ved slutten av forsøkene ble fisken overført til en 60 m polar sirkel merd før høsting.

Fisken ble foret daglig til metning med bruk av Betten automatiske mate-samlekasse. Totalt 5400 fisk med en gjennomsnittsvekt på 4,4 kg ble fylt i merden.

### Før behandling

En uke før forsøket, ble det gjennomført en lusetelling på fisken vi skulle bruke, for å få en oversikt over hvor mye lus det var per fisk. 100 fisk ble bedøvd og alle lus man fant ble registrert. Etter lusetellingen, ble også lus som hadde falt av fisken i bedøvelses karret registrert.

Lusa ble registrert i følgende fire kategorier:

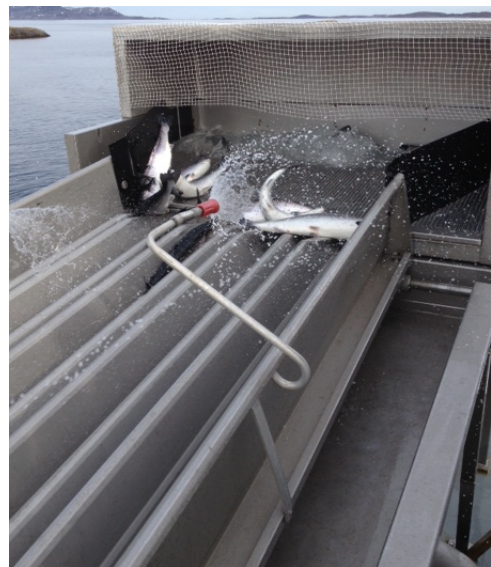
- *Lepeophtheirus salmonis*: Adult hunn- og hannlus
- *Lepeophtheirus salmonis*: Preadult
- *Lepeophtheirus salmonis*: Bevegelig (chalimus)
- *Caligus elongatus*

### Gjennomføring/behandling

Brønnbåten la seg ved siden av merden og begynte å pumpe fisk opp fra merden og inn i to forskjellige kammer. Det ene kammeret var fylt med ferskvann (0 ppt), mens det andre kammeret var fylt med sjøvann (33,4 ppt).

Hver halvpart av populasjonen med fisk ble pumpet i hvert sitt kammer.

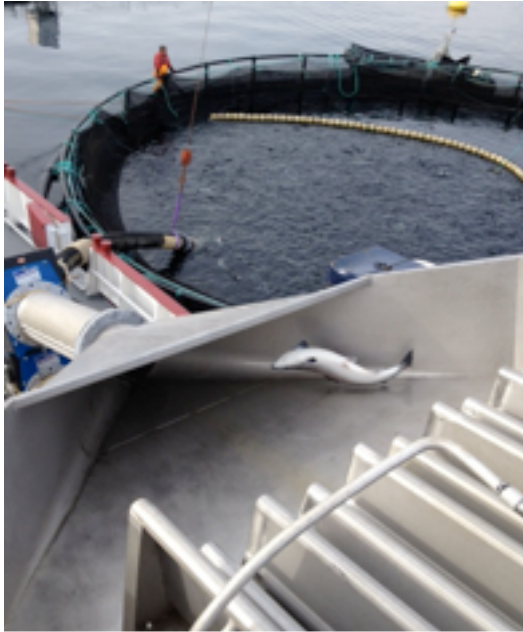
Mens fisken ble pumpet inn i kamrene, passerte de over en sorteringsinnretning (bilde 6) som gjorde det mulig å fjerne sjøvannet som fisken ble pumpet inn med, slik at det ikke kom noe sjøvann med inn i kammeret med ferskvann.



Bilde 5: Sorteringsinnretning, laks



Fisken ble eksponert for sjøvann og ferskvann i 3 til 4 timer, ( 3t til 4t pga. At det tok litt tid å få pumpet ut fisken)  
 Og deretter ble 100 fisk fra hvert kammer pumpet tilbake ut av brønnbåten og inn i to separate ”mini” merder (5x5x5m)



**Bilde 6: opp fra merd og ned i kammer.**



**Bilde 8: ”mini” merder hvor fisken ble pumpet ut i etter behandling**

Rett etter at fisken var pumpet ut tok vi all fisken fra begge merdene og bedøvde de, telte og registrerte all lus som var på fisken på samme måte som vi gjorde en uke før behandling.



**Bilde 7: laks etter behandling.**



**Bilde 9: telling av lus.**

## 2.3 Data og statistikk.

Statistisk signifikans av forskjeller ble beregnet med en – veis analyse av varians (ANOVA) hvor vi brukte Minitab™ statistisk programvare (Anonymous1994). Normaliteten og homogeniteten av variansen til alle datasettene ble testet før parameter statistisk analyse. Signifikante forskjeller mellom behandlinger ble bestemt av Tukey's multiple range test ( $p < 0.05$ ). Forskjeller i betydelig overflod av festet lus ble oppdaget etter log transformasjon av data.

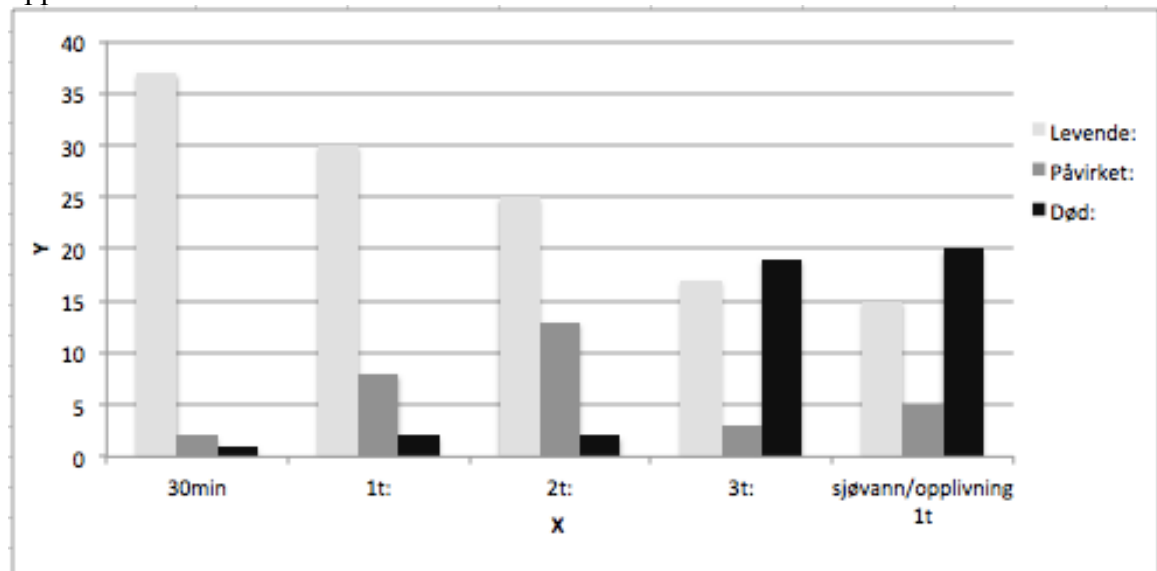
## 3.0 Resultater

### 3.1 innledning

Dette kapitlet omfatter resultater fra begge forsøkene, bioassay og brønnbåt. Når jeg presenterer resultatet fra bioassay vil jeg legge fram resultatene fra hver salinitetsgrad ved hjelp av stolpediagram. Resultatene fra begge bioassayene som ble gjennomført samtidig, har jeg lagt sammen til ett resultat. Når jeg skal presentere resultatene fra brønnbåt forsøket vil jeg legge fram resultatet i nedgang av lus fra hvert livsstadium, fast, bevegelig, kjønnsmoden og til slutt total.

### 3.2 Bioassay

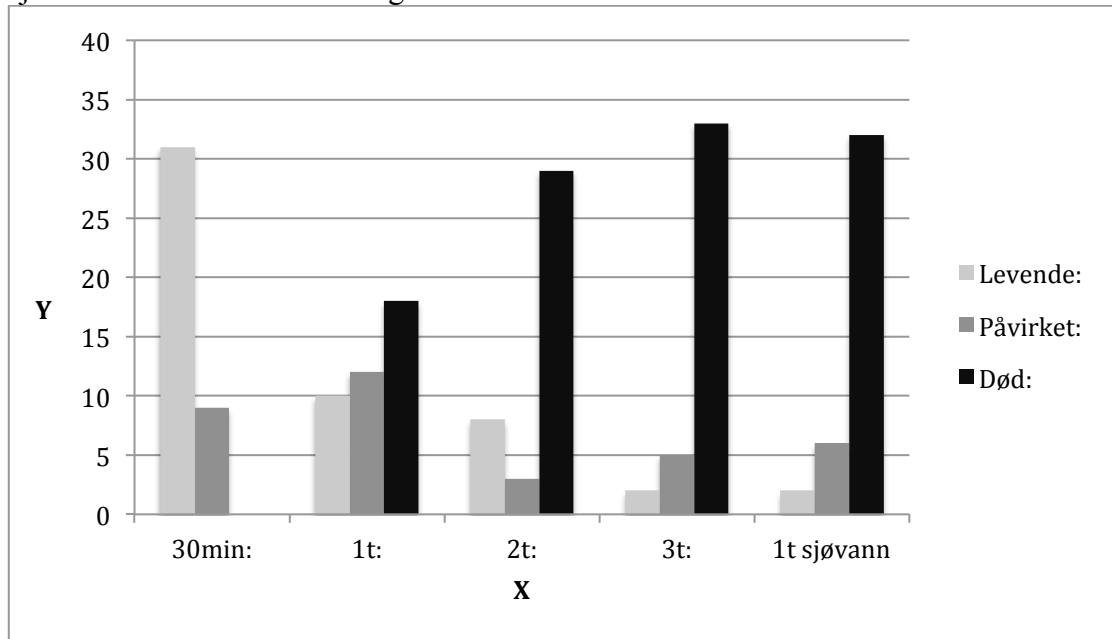
Ved 20ppt ser man (figur 2) at lusa klarer seg fint etter kun 30 min eksponering, kun en død og to påvirket. Men etter to- til tre timer begynner lusa å bli mere svekket. Etter tre timer er 47,5% av lusa død, og selv etter en time gjenopplivelse i sjøvann øker andelen døde lus til 50%. Som vi også ser på figur 2, er det ganske stor økning i antall døde lus fra to timer og opp til tre timer.



**Figur 2: Stolpediagram som viser levende, redusert og død lus etter forskjellig tidsintervall ved 20ppt, samt resultatet etter en times gjenopplivning i sjøvann. Y-aksen viser antall lus. X-aksen viser antall minutter eksponering.**

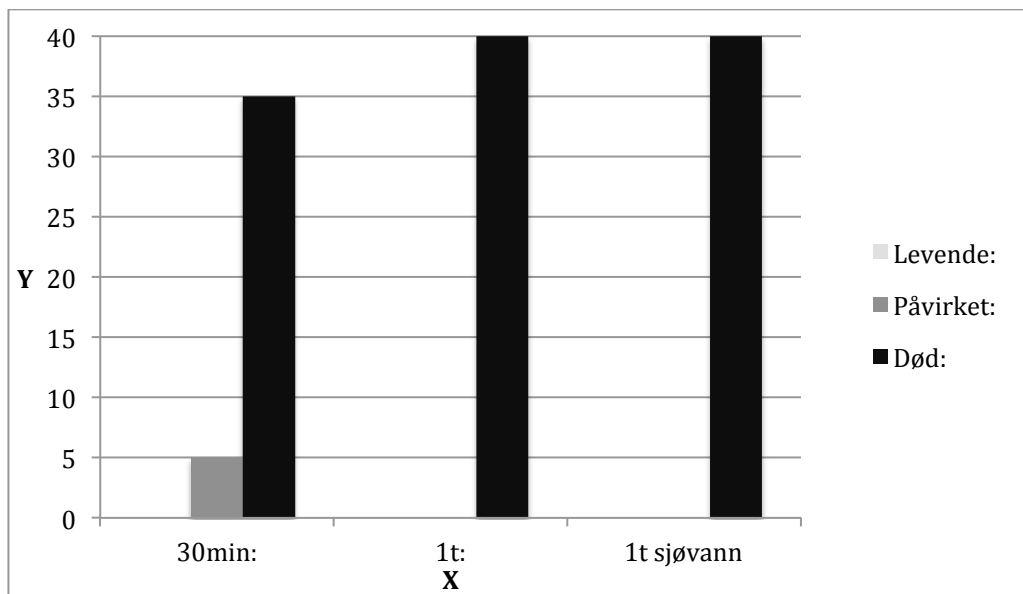
For lusa som har blitt eksponert for 10ppt viste det seg å ha større effekt på dødelighet (figur 3). Etter 30 minutter var 22,5% av lusa påvirket, og allerede etter to timer var 72,5%

av lusa død. Ved tre timer var 82,5% av lusa død, men etter en time gjenopplivning i sjøvann var andelen døde lus gått ned til 80%.



**Figur 3:** Levende, påvirket eller død lus ved forskjellige tidsintervaller ved 10ppt. Y akse viser antall lus. X akse viser antall minutter eksponering.

På rent ferskvann fikk vi meget raskt resultater. Etter 30 minutter var 12,5% av lusa påvirket og 87,5% død. Og som vi ser på figur 4, tok det ikke mer enn en time før all lusa var død. Selv etter en time gjenopplivning i sjøvann var det ingen livstegn.



**Figur 4:** lus eksponert for ferskvann. Y akse viser antall lus. X akse viser antall minutter eksponering.

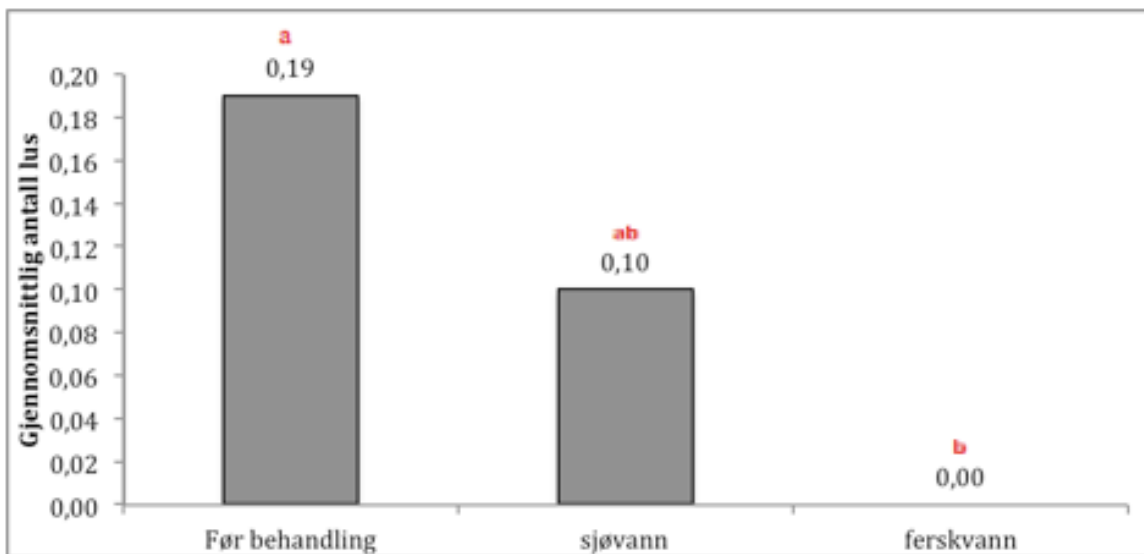
Vi hadde også en kontrollgruppe som ble eksponert for rent sjøvann, 33ppt, gjennom hele bioassayen. Etter tre timer var fem lus døde, en påvirket og trettifire levende.



### 3.3 brønnbåt

Resultatet fra analysen av fast lus (chalimus) før og etter behandling kan ses i figur 5. Resultatet fra behandlingen viste at fisk som gjennomgikk ferskvannbehandlingen hadde signifikant færre fast lus (0,00 per fisk) sammenliknet mot antall fast lus før behandling (0,19 per fisk) ( $F_{2,297} 8,50$ :  $p < 0.0001$ ).

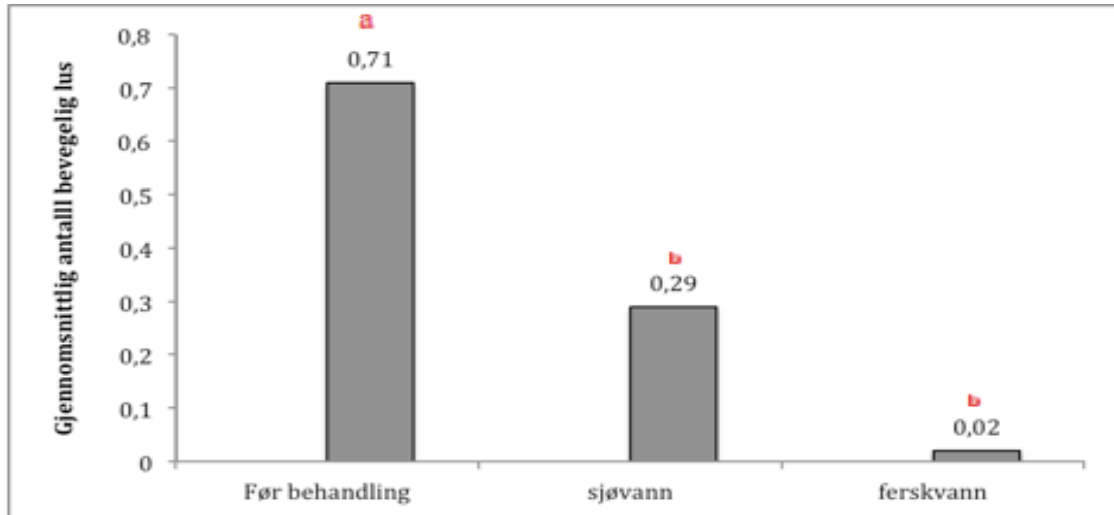
Selv om gjennomsnittlig antall fast lus viste seg å være lavere etter ferskvannsbehandlingen sammenliknet med både sjøvann og før behandling, var det ikke en signifikant forskjell.



**Figur 5:** Gjennomsnittlig antall fast lus av *L. Salmonis* per fisk registrert etter hver behandling. Gjennomsnittsverdier som ikke deler bokstav ble funnet å være signifikant forskjellig, ved hjelp av ANOVA og Tukey's multiple range test.

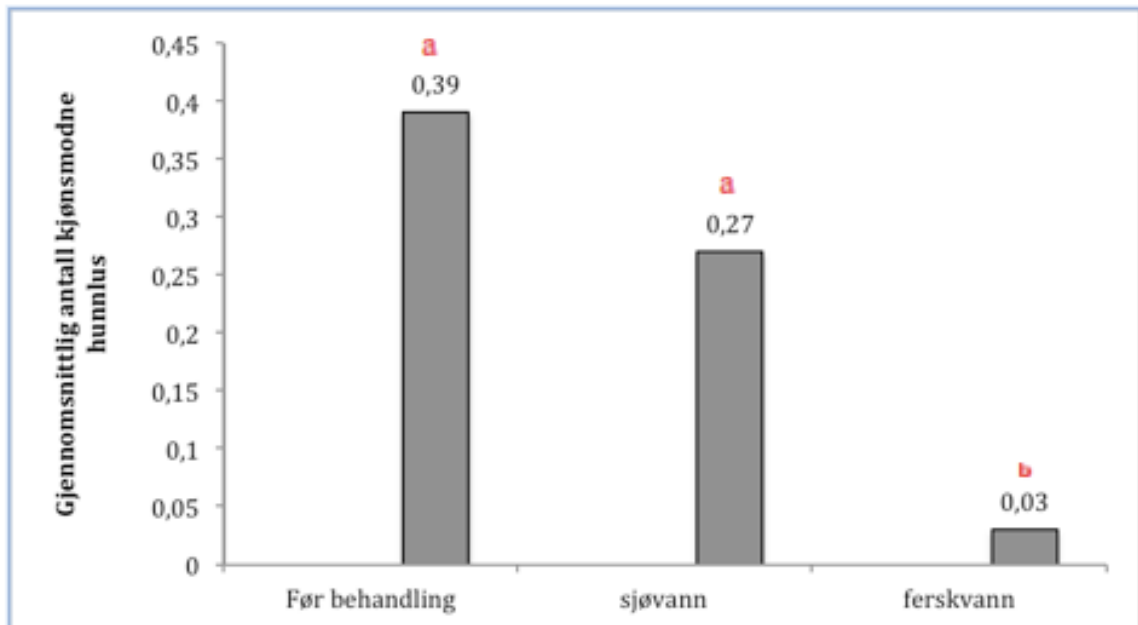
Resultatet fra analysen av bevegelig lus før og etter behandling kan ses i figur 6. Resultatet viste at fisk som gikk gjennom ferskvannsbehandling hadde signifikant færre bevegelige lus (0,02 per fisk) og sjøvann (0,29 per fisk), sammenliknet mot antall bevegelige lus før behandling (0,71 per fisk) ( $F_{2,297} 24,33$ :  $p < 0,0001$ ).

Selv om gjennomsnittlig antall bevegelige lus var lavere på ferskvannsbehandlingen sammenliknet med sjøvann, var det ikke en signifikant forskjell.



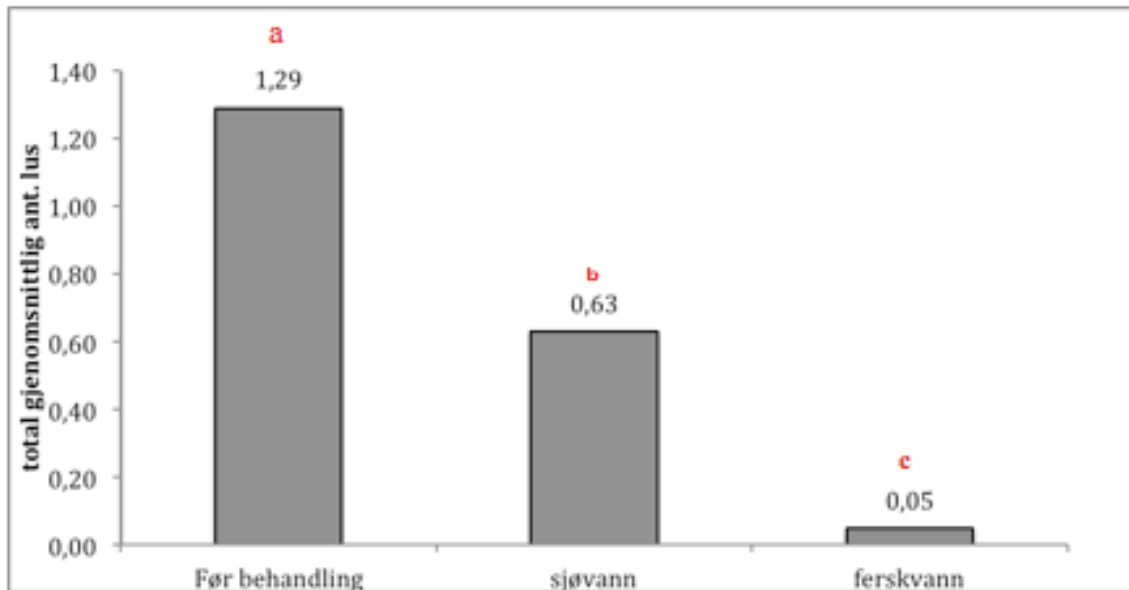
**Figur 6:** Gjennomsnittlig antall bevegelig lus av *L. Salmonis* per fisk registrert etter hver behandling. Gjennomsnittsverdier som ikke deler bokstav ble funnet å være signifikant forskjellig, ved hjelp av ANOVA og Tukey's multiple range test.

Resultatet fra analysen av kjønnsmoden hunn lus før og etter behandling kan ses i figur 7. Resultatet viste at fisken som gikk gjennom ferskvannsbehandlingen hadde signifikant lavere antall kjønnsmodne hunn lus (0,03 per fisk) sammenliknet med før behandling (0,39 per fisk) og sjøvann (0,27 per fisk) ( $F_{2,2978,60}$ :  $p < 0,0001$ ). Selv om fisken som var i sjøvann hadde gjennomsnittlig lavere antall kjønnsmodne lus, var det ikke signifikant lavere enn før behandling.



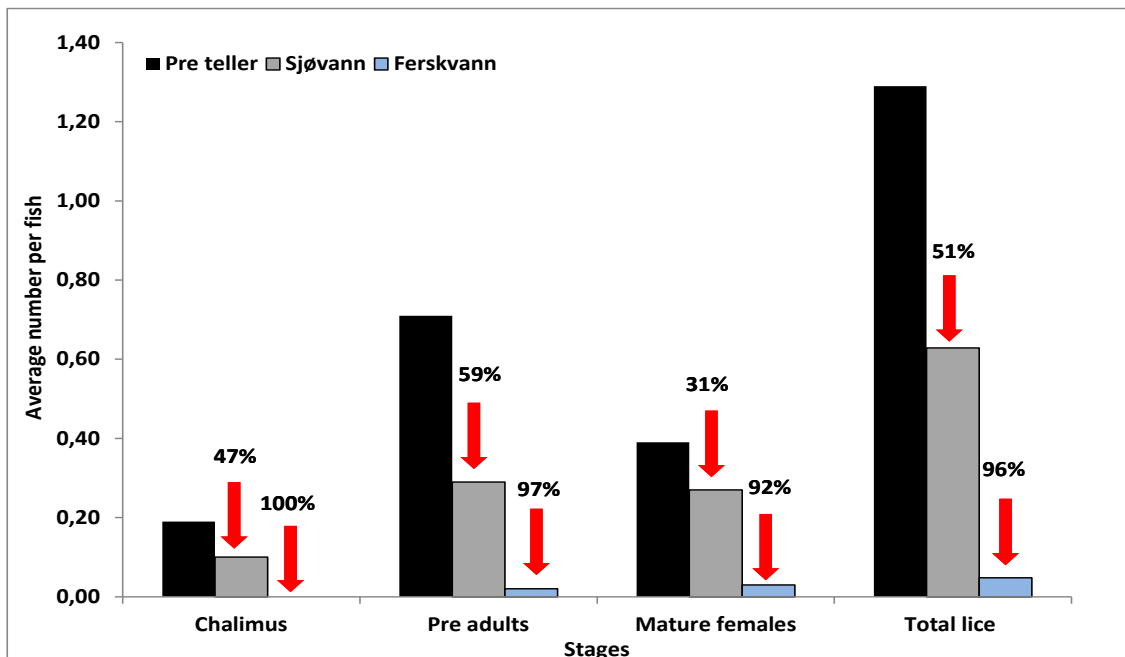
**Figur 7:** Gjennomsnittlig antall kjønnsmoden hunn lus av *L. Salmonis* per fisk registrert etter hver behandling. Gjennomsnittsverdier som ikke deler bokstav ble funnet å være signifikant forskjellig, ved hjelp av ANOVA og Tukey's multiple range test.

Hvis vi ser på resultatene totalt (figur 8), viser det at før behandling (1,29 per fisk) sjøvann (0,63 per fisk) og ferskvann (0,05 per fisk) er signifikant forskjellig fra hverandre ( $F_{2,2974549}$ :  $p < 0,0001$ ). Det vil si at alle resultatene er signifikant forskjellige fra hverandre.



**Figur 8:** Total gjennomsnittlig antall lus (alle livsstadier) av *L. Salmonis* per fisk registrert etter hver behandling. Gjennomsnittsverdier som ikke deler bokstav ble funnet å være signifikant forskjellig, ved hjelp av ANOVA og Tukey's multiple range test.

På figur 9, kan vi se en oppsummering av resultatet i form av prosentvis nedgang av lus etter behandling. Som vi ser var det ganske stor nedgang av lus på fisken som kun har vært i sjøvann, hele 51% reduksjon fra før behandling. Total nedgang av lus på fisk som har vært i ferskvann var på 96%, og det livsstadiet til lusa som hadde størst dødelighet var fast lus (100% reduksjon). Livsstadiet til lusa med minst dødelighet var kjønnsmoden lus, som lå på 92% reduksjon fra før behandling.



**Figur 9:** Stolpediagram som viser prosentvis reduksjon av lakselus *L. Salmonis*, samt total prosentvis reduksjon og før behandling (pre teller). (Patrick Reynolds; 2013).

## 4.0 diskusjon

### 4.1 Bioassay

Lusa som ble brukt i bioassay ble lagret over natten i luftet sjøvann ved 4°C, samme som sjøtemperatur, hovedsakelig for å luke ut svak lus som ikke tålte behandling under plukking eller skadet lus. Selv om dette ble gjort opplevde vi en dødelighet på kontrollgruppen som gikk på rent sjøvann gjennom hele bioassayen, henholdsvis fem døde og en påvirket av førti preadult hunnlus. I en slik bioassay hvor man bruker levende individer vil det alltid være feilkilder, og man kan ikke konkludere hundre prosent på disse resultatene. Men det gir en fin pekepinn på hvordan preadult hunnlus reagerer på ulike saliniteter.

Hvis vi ser nærmere på resultatene fra bioassay er det en klar tendens at lusa blir påvirket negativt jo lavere salinitet den bli eksponert for. Og det er relativt kjent at lakselusa prøver å unngå sjøvann med lavere saltholdighet enn ca. 20 ppt, sammen med havstrømmene er dette med på å bestemme hvor lusa finner vertsindivider (Asplin og Sandvik, 2009; Boxaspen, 2009; Boxaspen, 1997; Koren, 2005). Hvis man ser på lusa som ble eksponert for 20ppt i bioassayen tar det litt tid før lusa begynner å bli påvirket, men etter to timer synker andelen påvirket lus drastisk og andelen død lus går opp etter tre timer, 47,5% (figur 2).

En time med gjenopplivning i sjøvann ga en liten oppsving på andelen døde og påvirkede lus, en mulig årsak til dette kan være at lus som var meget påvirket etter tre timer ikke klarte omstillingen tilbake til saltvann.

Ved 10ppt fikk vi som forventet større dødelighet, andelen døde etter tre timer var 82,5% (figur 3). Men ved 10ppt ble det et litt annet resultat etter en time gjenopplivning i sjøvann enn det vi fikk ved 20ppt. Fra 82,5% døde lus etter tre timer, går andelen død lus ned til 80% etter en time i sjøvann. Det er vanskelig å si årsaken til dette, det kan for eksempel være at vi bedømte noen lus som døde, mens de var kanskje bare påvirket.

For lusa som ble eksponert for ferskvann (figur 4) fikk vi raskt resultater. Etter en time var all lus død, og en time gjenopplivning i sjøvann ga ingen nye resultater. Dette viser at preadulte hunnlus er svært følsomme mot ferskvann. Hvis vi ser nærmere på hva tidligere forskning har vist angående hvordan lakselus reagerer på forskjellig salinitet, har det i hovedsak blitt fokusert på de tidlige frittlevende copepoditt stadiene. I følge Pike

et.al(1999) har lav saltholdighet større innvirkning på de planktoniske stadiene enn på de parasittiske. Nyklekte larver viste seg å ikke overleve under 15ppt (Genna et al, 2005; Ritchie, 1997). Og en annen studie viste at fritt – svømmende copepoditt ble alvorlig kompromittert av salinitet under 29ppt (Bricknell et al, 2006).

Denne studien viser at ”frittlevende” (pga. Ingen vert) preadulte hunnlus også er meget følsomme mot lav saltholdighet og spesielt ferskvann.

## 4.2 Brønnbåt

Årsaken til at vi kalte det et semi-kommersialiseringsforsøk var på grunn av mengden fisk som fikk behandling var ganske lite i forhold til hva som er på et vanlig matfiskanlegg. Da må en mye større biomasse inn i brønnbåten og det kan hende man støter på nye problemer da.

Når det gjelder hvordan laksen reagerer på eksponering for ferskvann i overkant av tre timer, har det vist seg å gå helt fint. I et tidligere forsøk i regi GIFAS hvor det ble gjennomført ferskvannsbehandling med laks på rundt 2kg i ferskvann, ble det etter behandlingen registrert ingen uvanlig dødelighet og en oppgang i appetitt.

Men resultatene vi fikk fra semi-kommersialiseringsforsøket med ferskvannsbehandling av lakselus ved hjelp av brønnbåt ga meget klare resultater. Totalt fikk vi en signifikant reduksjon i antall lus (alle livsstadier) etter ferskvannsbehandling som hadde et gjennomsnitt på 0,05 lus per fisk, sammenliknet med før behandling da det var 1,29 lus per fisk totalt (figur 8).

Totalt så ble antallet lus på fisk som ble eksponert for saltvann (0,63 lus per fisk) også signifikant lavere enn før behandling (1,29 lus per fisk)(figur 8). Dette kan kanskje forklares med den relativt tøffe behandlingen fisken fikk fra merd og inn i brønnbåt.

For fisken som skulle behandles med ferskvann måtte vi fjerne saltvann ved hjelp av en sorteringsmaskin, som førte til en tøffere behandling, i motsetning til hvis fisken hadde blitt pumpet rett i brønnbåtkamrene.

For å få et riktig resultat fikk fisken som skulle i saltvann den samme behandlingen som fisken som skulle i ferskvann.

Hvis vi ser nærmere på hvilke av livsstadier til lakselusa som var mest følsomme mot ferskvann i dette forsøket, er det fast lus (chalimus). Der fikk vi en reduksjon på 100% (figur 9), som var signifikant forskjellig fra både før behandling og sjøvann (figur 5).

Når det gjelder både fast lus og bevegelig lus hadde ikke fisk som var i sjøvann eller ferskvann signifikante forskjeller i antall lus.

Men hvis vi ser på kjønnsmodne hunnlus (figur 7) hadde fisken som ble utsatt for ferskvann signifikant lavere antall lus (0,03) i forhold til fisken som hadde blitt utsatt for saltvann (0,27 lus per fisk), det vil si en reduksjon på 92% (figur 9). En av årsakene til dette kan være at kjønnsmoden hunnlus har en bedre "forankring" til fisken, ettersom den legger ett "sementlag" som gjør at den sitter bedre til fisken enn for eksempel bevegelig lus. Den totale prosentvise reduksjonen av lakselus på fisken som ble behandlet med ferskvann ble altså 96%, som er et akseptabelt resultat når man sammenligner med andre typer behandlingsmetoder. Ved syv anlegg i Salten ble det gjennomført syv avlusninger i perioden 1.januar til 31.mai 2010. Da ble det brukt bademidlene Alpha max, Salmosan og det orale midlet Slice. Den totale behandlingseffekten på alle behandlingene var 81%. Det var to tilfeller med behandlingssvikt, uten de to tilfellene var den totale effekten på behandling 93% (Gaute Hilling, 2010).

## 5.0 Konklusjon

Ut i fra bioassay og forsøk med brønnbåt viser det at bruk av ferskvann som avlusningsmetode har et stort potensiale. Resultatene fra bioassay viste at alle preadulte hunnlus var døde etter en time i ferskvann, samt at 80% døde ved 10ppt. I brønnbåtforsøket døde 100% av faste lus og 97% av bevegelig lus. Det lover godt at alle stadiene før kjønnsmodning er meget følsomme mot ferskvann, slik at det blir effektivt å behandle anlegg før man får mange kjønnsmodne lus. En nedgang på 92% av kjønnsmodne hunnlus tyder på at de er mindre følsomme mot ferskvann. Enten må man ha lengre eksponeringstid i ferskvann for å oppnå bedre effekt, eller kombinere behandlingen med en av de kommersielle legemiddelbehandlingene med ferskvann. Hvis det er mulig å kombinere ferskvannsbehandling med legemidler, vil det kanskje føre til at man ikke trenger like lang behandlingstid, som kanskje vil være med på å gjøre denne behandlingsmetoden mer aktuell for kommersielle matfiskanlegg.

Men det kan også oppstå problemer med tilføring av legemidler, i forhold til f.eks. PH. Det at selve metoden for å få fisken inn å brønnbåten også førte en del tap i lus er også positivt.

En annen ting, som det gjenstår en del forskning på, er om ferskvann påvirker eggene i eggstrengene til kjønnsmoden hunnlus, samt om hunnlusa etter eksponering for ferskvann er i stand til å produsere flere eggstrenger.

Hovedutfordringen er å få ferskvannsbehandling kommersialisert, som er mulig men vanskelig. Mye på grunn av lang behandlingstid samtidig som at man trenger en stor og god ferskvannskilde, og ikke minst tilgjengeligheten av brønnbåter.

## Referanser

- Asplin, L. Og Sandvik, A., D., 2009. Fjordmiljøet påvirker lakselusa. Norsk Fiskeoppdretter 34 (6A): 18-19
- Bjørn, P.A. & Finstad, B. 1997. The physiological effects of salmon lice infection on sea trout post smolt. *Nordic Journal of Freshwater Research*, 73: 60-72.
- Bjørn, P. A., Finstad, B. & Kristoffersen, R. 2005. Regi- streringer av lakselus på laks, sjørret og sjørøye i 2004. NINA Rapport, 60: 1-28.
- Boxaspen, K.K., 2009. Lakselus-biologi og spredning. *Norsk Fiskeoppdrett* 34 (6A): s.10-12
- Boxaspen, K.K., 1997. Kjenner vi lakselusa? *Havforskningstema 2- 1997*
- Bricknell, I.R., Dalesman, S.J., O'Shea, B., et al. (2006) Effect of environmental salinity on sea lice *Lepeophtheirus salmonis* settlement success. *Diseases of Aquatic Organisms*, 71, 201-212.
- Finstad, B., Kroglund, F., Strand, R., et al. (2007) Salmon lice or suboptimal water quality – Reasons for reduced post-smolt survival? *Aquaculture*, 273, 374-383.
- Gaute Hilling., 22.06.2010. Lusa i Salten, kampen mot laskelusa (*Lepeophteirus salmonis*). Bacheloroppgave.
- Heuch P.A., Parsons A. & Boxaspen K. 1995. Diel vertical migration: a possible host-finding mechanism in salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) copepodids? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 52, 681-689.
- Heuch P.A. 1995. Experimental evidence for aggregation of salmon louse copepodids, *Lepeophtheirus salmonis*, in steep salinity gradients. *J. Mar. Biol.Ass. U.K.*, 75 927-939.
- Heuch P.A., Nordhagen J.R. & Schram T.A. 2000. Egg production in the salmon louse [*Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer)] in relation to origin and water temperature. *Aquaculture Research*, 31, 805-814.
- Heuch P.A., Bjørn P.A., Finstad B., Holst J.C., Asplin L. & Nilsen F. 2005. A review of the Norwegian National Action Plan Against Salmon Lice on Salmonids: The effect on wild salmonids. *Aquaculture* 246: 79-92.
- Heuch, P.A., 2009. Lakselusas strategi som parasitt. *Norsk Fiskeoppdrett* 34 (6A): 16-17
- Horsberg, T.E., 2009. Resistens – et økende problem. *Norsk Fiskeoppdretter* 34 (6A): 104-105.
- Kabata, Z. (1974). *J. Fish. Res. Board. Can.*, **31**, 1583-1588
- Koren, C., 2005. Sammenhengen mellom overflatestrømmer som transporterer luselarver og mengden lakselus i oppdrettsanlegg. Fiskehelse Nord delrapport til Fiskeriforskning på prosjektet "Risiko, forvaltning og bekjempelse på vill og oppdretta laksefisk. 10 s.



Kvenseth, P.G., Andreassen, J. og Solgaars. J., 2003. Berggylt – en sterk medesin! Norsk Fiskeoppdrett 2003/2: 34-37

Kvenseth, P.G., Andreassen, J., og Bergh, Ø. 2002. Leppefisk – liten rensefisk kan berge stor laks!.I: Glette, J., van der Meeren, T., Olsen, R.E. og Skilbrei, O. (red), 2002 Havbruksrapport 2002. Fisken og havet, særnr. 3 - 2002

Schram T.A. 1993. Supplementary descriptions of the developmental stages of *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837) (Copepoda: Caligida). In: Pathogens of Wild and Farmed Fish: Sea Lice (ed. By G.A. Boxshall & D. Defaye), pp. 30-47. Ellis Horwood, Chichester.

Tucker, CS, Sommerville, C & Wootten, R. (2000). The effect of temperature and salinity on the settlement and survival of copepodids of *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837) on Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases* 23, 309-320.

Havforskningsinstituttet 07.04.2009. oppdatert 20.05.2011.  
<http://www.imr.no/temasider/parasitter/lus/lakselus/nb-no>

Veterinærinstituttet. 18.12.2012  
<http://www.vetinst.no/Faktabank/Alle-faktaark/Lakselus>

Folkehelseinstituttet. 08.03.2013.  
<http://www.fhi.no/artikler/?id=104739>

## Vedlegg

### Appendiks 1: Resultater fra bioassay:

<b>Temp:</b>	<b>4</b>	<b>Date:</b>	<b>08.mars</b>
--------------	----------	--------------	----------------

Salinitet	Antall lus	Tid	Levende	Redusert	Død	Revival (1hr)
33ppt	20	30 min	20			
	20		18		2	
Salinitet	Antall lus	Tid	Levende	Redusert	Død	Revival (1hr)
20ppt	20	30 min	18	2		
	20		19		1	
Salinitet	Antall lus	Tid	Levende	Redusert	Død	Revival (1hr)
10ppt	20	30 min	15	5		
	20		16	4		
Salinitet	Antall lus	Tid	Levende	Redusert	Død	Revival (1hr)
FW	20	30 min		3	17	
	20			2	18	

Salinitet	Antall lus	Tid	Levende	Redusert	Død	Revival (1hr)
33ppt	20	1 t	20			
	20		18		2	
Salinitet	Antall lus	Tid	Levende	Redusert	Død	Revival (1hr)
20ppt	20	1 t	17	2	1	
	20		13	6	1	
Salinitet	Antall lus	Tid	Levende	Redusert	Død	Revival (1hr)
10ppt	20	1 t	7	6	7	
	20		3	6	11	
Salinitet	Antall lus	Tid	Levende	Redusert	Død	Revival (1hr)
FW	20	1 t			20	20
	20				20	20

Salinitet	Antall lus	Tid	Levende	Redusert	Død	Revival (1hr)
33ppt	20	2 t	19		1	
	20		18		2	
Salinitet	Antall lus	Tid	Levende	Redusert	Død	Revival (1hr)
20ppt	20	2 t	15	5		
	20		10	8	2	
Salinitet	Antall lus	Tid	Levende	Redusert	Død	Revival (1hr)
10ppt	20	2 t	3	1	16	
	20		5	2	13	
Salinitet	Antall lus	Tid	Levende	Redusert	Død	Revival (1hr)
FW	20	2 t				
	20					

Salinitet	Antall lus	Tid	Levende	Redusert	Død	Revival (1hr)
33ppt	20	3 t	17	1	2	
	20		17		3	
Salinitet	Antall lus	Tid	Levende	Redusert	Død	Revival (1hr)
20ppt	20	3 t	10	1	9	5l,1r,4d
	20		7	2	10	2,1,6
Salinitet	Antall lus	Tid	Levende	Redusert	Død	Revival (1hr)
10ppt	20	3 t	1	3	16	1r;9d
	20		1	2	17	1,1,8
Salinitet	Antall lus	Tid	Levende	Redusert	Død	Revival (1hr)
FW	20	3 t				
	20					

## Appendiks 2: Analyse og resultat fra brønnbåt forsøk.

		pre count	seawater	freshwater
<b>Fast</b>	pre count		ns	0,000
	seawater	F2,297;8,50		ns
	freshwater			
<b>pre adults</b>	pre count			
	seawater	F2,297;24,33		
	freshwater			
<b>mature females</b>	pre count		ns	0,000
	seawater	F2,297;8,60		0,000
	freshwater			
<b>total lice</b>	pre count		0,000	0,000
	seawater	F2,297;4549		0,000
	freshwater			

means which do NOT share a letter are significantly different

gjennomsnittlig antall lus	Før behandling	sjøvann	ferskvann
total gjennomsnittlig ant. Lus	1,29	0,63	0,05
Fast	0,19	0,10	0,00
Bevegelege	0,71	0,29	0,02
Kjønnsmodne	0,39	0,27	0,03

