

# Sluttrapport pilotprosjekt Zooscan-metodikk og skottelusforekomst



*Foto: Skottelus kopepoditt i stereolupe like etter fiksering med 4 % formalin.*

Rapport APN-8290-P2

**Dette er en blank side**

<b>Rapporttittel</b> Pilotprosjekt: Zooscan-metodikk og skottelusforekomst	
<b>Forfatter(e):</b> Kristine Hopland Sperre Karin Bloch-Hansen Claudia Halsband Mette Remen	<b>Akvaplan-niva rapport: APN-8457-P1</b>
	<b>Dato:</b> 20-03-2020
	<b>Antall sider:</b> 22 + 0
	<b>Distribusjon:</b> Offentlig
<b>Oppdragsgiver:</b> Lerøy Aurora AS	<b>Oppdragsg. referanse</b> Forskningstillatelse TTN17
<b>Sammendrag</b> Tap av pigmentering som følge av fiksering og lagring av vannprøvene resulterte i at skottelus- og lakseluslarver ikke kunne skilles fra hverandre på artsnivå. Det ble derfor ikke opparbeidet skottelus-spesifikke data som kunne tallfeste smittepress i sjø. I totalitet var analyseresultatene fra vannprøvene forbundet med usikkerhet og de kunne i liten grad brukes for å studere sammenhenger mellom smittepress av skottelus i sjø og infestasjonsgrad på laks. Det ble ikke gjort funn av kopepoder eller frittlevende voksne skottelus og lakselus ved analyse av vannprøvene. Vannanalysene indikerte at nauplier fra lakse- og skottelus utgjorde en svært liten del av det totale planktonsamfunnet på lokaliteten. Dette, sammen med høyt innhold av zooplankton og partikkulært materiale generert, gjorde det teknisk/praktisk utfordrende å oppnå god presisjon på resultatene. Analyse av de enkelte delprøvene viste svært variable resultater. Manuelle tellinger av delprøver og bruk av Zooscan viste imidlertid godt samsvar. I sum har Akvaplan-niva opparbeidet viktig kunnskap og definert konkrete forbedringspunkter tilknyttet bruk av Zooscan-metoden gjennom prosjektet. Før man evt realiserer et nytt prosjekt må man i større grad være sikker på at metoden kan levere resultater som gir grunnlag for input til øvrige arbeidspakker.	
<b>Prosjektleder</b>  Karin Bloch-Hansen	<b>Kvalitetskontroll</b>  Albert Imsland

## INNHOLDSFORTEGNELSE

1 INNLEDNING.....	6
2 METODIKK .....	7
2.1.1 Om lokaliteten.....	7
2.1.2 Vannprøver og identifikasjon av skotteluslarver i vannmasser .....	7
2.1.3 Identifisering av faste og voksne stadier av skottelus på laks.....	10
2.1.4 Kartlegging av villfiskforekomst .....	11
3 RESULTATER OG DISKUSJON.....	12
3.1 ZooScan .....	12
3.1.1 Resultater .....	12
3.1.2 Diskusjon ZooScan – dataanalyse.....	13
3.2 Lus på fisk.....	15
3.2.1 Totalt antall skottelus i alle enheter .....	15
3.2.2 Differensiert skottelustellinger – faste og voksne stadier – 2 enheter .....	16
3.3 Forekomst av villfisk rundt merd.....	17
4 VIDERE ARBEID .....	20
REFERANSER .....	22

# Forord

---

Skottelusinfestasjon på oppdrettslaks er et økende problem, spesielt i Nord Norge. Skottelusa kan påvirke laksens velferd negativt i form av stress, økt hoppeaktivitet, skader og sårutvikling. En viktig forutsetning for å kunne forebygge og begrense smittepredning av skottelus er økt kunnskap om skottelusas biologi og faktorer som påvirker smittepress og spredningsmønstre. Et viktig verktøy for å kunne opparbeide mer biologisk kunnskap er gode metoder for identifikasjon og kvantifisering av ulike utviklingsstadier av skottelus i vannmassene. Akvaplan-niva har kompetanse på vannprøvetaking og identifisering av luselarver, og har erfaring med bruk av zooscan for automatisert identifisering. Pilotprosjektet *Zooscanmetodikk og skottelusforekomst* er gjennomført i tilknytning til Akvaplan-niva sin forskningstillatelse TTN17. Hovedmålet med prosjektet har vært å videreutvikle eksisterende metodikk og identifisere ved hvilke dyp de planktoniske stadiene oppholder seg. I tillegg har det vært et mål å benytte dataene til å se på sammenhenger mellom smittepress i sjø og smittepress på laks, samt kartlegge om forekomst av villfisk rundt merdene påvirker smittepress av skottelus på laksen.

# 1 Innledning

---

I FHF-prosjektet "Kunnskaps- og erfaringskartlegging av skottelus" (KEKS, Imstrand mfl. 2019), kommer det frem at det er begrenset kunnskap om forekomst, smitteveier og vertikal distribusjon av skottelus i vannsøyla. Manglende kunnskap gjør det utfordrende å utvikle gode forebyggende tiltak mot skottelus i lakseoppdrett.

Akvaplan-niva ønsker å opparbeide mer kunnskap om faktorer som påvirker smittepress av skottelus. Som et ledd i dette, ble det besluttet å gjennomføre pilotprosjektet *Zooscanmetodikk og skottelusforekomst* i tilknytning til Akvaplan-nivas FoU-konsesjon i sjø som er samlokalisert med Lerøy Aurora.

Pilotprosjektet har omfattet vannprøvetaking for kartlegging av larvestadier av skottelus i vannmasser ved bruk av planktonhåv ved ulike dyp, utvikling av metodikk for automatisk og stadiе-spesifikk telling av skottelus og lakselus (ZooScan), visuell, stadiespesifikk telling av skottelus på laks (fastsittende og bevegelige stadier) og kartlegging av villfiskforekomst rundt not på oppdrettslokalitet.

Hovedmålet med pilotprosjektet har vært å etablere en egnet metodikk for vannprøvetaking og identifikasjon av planktoniske stadier av lus vannmasser ved bruk av ZooScan. Differensierte tellinger av skottelus ble gjennomført for å tallfeste infeksjonspress på laks, og se disse dataene i sammenheng med forekomst av luselarver i sjø og forekomst av villfisk rundt not. Det har også vært en målsetning å opparbeide erfaringsbasert kunnskap for å identifisere optimaliseringstiltak tilknyttet metodikken. Videre vil resultater fra studien gi en pekepinn på hvilken retning videre forskning på temaet bør ta.

Prosjektgruppen i Akvaplan-niva har bestått av:

Mette Remen  
Claudia Halsband  
Kristine Hopland Sperre  
Karin Bloch-Hansen

## 2 Metodikk

---

Feltarbeid ble gjennomført på lokalitet Sessøya i Tromsø kommune i perioden september-desember 2019. Det ble gjennomført ukentlige, stadiespesifikke skottelustellinger på laks (faste og voksne stadier), kameraovervåking av villfiskforekomst rundt not, og månedlig uttak av vannprøver i 4 dybdeintervaller fra 0-100 m for telling av planktoniske stadier av skottelus og lakselus.

### 2.1.1 Om lokaliteten

Lokalitet Sessøya ligger i Sessøyfjorden (Fig. 1). På lokaliteten sto det 1. september seks merder med fisk. Merdene var 160 m i omkrets med notdybde 55 m (spissnøter). Lokaliteten var under utslaktning mens prosjektet pågikk, og merdene 1167 og 1189 var planlagt slaktet ut sist (nov/desember 2019) og prøvetaking ble derfor gjennomført i tilknytning til disse. Fisk i alle merder unntatt en ble avluset mekanisk 8.-9 september (Flatsetsund lusespyler). Den siste merden ble avluset 22. september.



Fig. 1. Geografisk lokasjon av anlegget på Sessøya.

### 2.1.2 Vannprøver og identifikasjon av skotteluslarver i vannmasser

#### 2.1.2.1 Uttak av vannprøver

Det ble gjennomført tre prøveuttak: 26 september, 18 oktober og 14 november 2019.

Vannprøver ble hentet ut i en tom merd uten not ved ulike dybdeintervall. Samme merd, den nord-østligste i anlegget, og samme fortøyningspunkt ble brukt ved alle uttak. Koordinatene for prøvetakingspunktet var 69°44.954 N og 018°14.904 Ø.

En planktonhåv med 180 µm maskevidde, 50 cm åpning og lukkemekanisme ble senket for hånd ned til startdybden for prøvetakingen. Håven ble deretter heist opp med en "Nokk" til stoppdybden. En lukkevekt ble deretter sendt ned for å stenge plankton-nettet før den ble hevet til overflaten og dekk av servicefartøy. Hastigheten ved prøvetaking var maksimalt ca. 0.5 m/s. Nettet ble spylt med sjøvann fra utsiden og innholdet i ble samlet inn. Prøvene ble

konservert med saltsprit for å opprettholde pigmenetring på individene, og transportert til laboratoriet. Prosedyren ble gjentatt for alle dybdeintervallene (se tabell 2). Lukkemekanismen ble ikke benyttet for prøvetakingen som hadde stoppdypde i overflaten. CTD ble montert på planktonnettet og senket ned samtidig som prøvetakingen fra 100-0 meter.

Tabell 2 prøvetaking:

Prøvenavn	Startdybde prøvetaking	Stoppdybde prøvetaking	Prøvetakings volum	Kommentar
100 – 0 m	100 m	Overflate (0 m)	78,5 m <sup>3</sup>	En CTD ble festet i åpningen på planktonnettet.
100 – 50 m	100 m	50 m	39,3 m <sup>3</sup>	
50 – 15 m	50 m	15 m	27,5 m <sup>3</sup>	
15 – 0 m	15 m	Overflate (0 m)	11,8 m <sup>3</sup>	

### 2.1.2.2 Prosessering av prøvene ved laboratorie:

En motoda plankton splitter ble benyttet for å dele vannprøvene som hadde en stor mengde dyr eller organisk materiale, i mindre delprøver før analyse.

ZooScan er en integrert prosess der programmene ZooProcess og EcoTaxa benyttes for å oppdage, tallfeste og måle objekter som har blitt scannet på en maskin, i dette tilfellet Hydroptic ZSCA03. Metoden, maskinen og dataprogrammene er utviklet ved Observatoire Oceanaologique de Villfranche-sur-mer i Frankrike (Picheral et.al. 2017).



Fig. 2 Skissering av skanningsprosessen i ZooProcess, løst basert på Gorsky et al 2010.

Arbeidsprosessen i ZooProcess er skissert i figur 2. Prøven(es) metadata blir registrert før et bakgrunnsbilde skannes. Bakgrunnsbildet vil senere bli trukket fra prøve som skannes. Oppløsningen 4800 dpi ble benyttet på bildene. Skanningen skjer ved at prøven som skal analyseres legges på glassflaten i Hydroptic, figur 3, deretter brukes en kaktuspinne for å separere dyr som er i kontakt med hverandre eller andre objekter. Når prøven er scannet får vi ett stort bilde av hele prøven. ZooProcess brukes da til å skille ut alle individuelle objekter til egne vinjetter. Dersom prøven er for tett (mange dyr), dårlig separert eller det er mange fiber i prøven vil man kunne få vinjetter som består av flere individer, se figur 4. Man kan da enten gå tilbake og skanne en mindre del av prøven på nytt eller benytte ZooProcess til å separere objektene på disse vinjettene. Dersom vi gjør endringer må ZooProcess igjen separere vinjettene og lage nye tabeller og filer. En mer detaljert metodebeskrivelse for bruk av ZooProcess finnes i brukermanualen, Picheral & Elenau, 2020.





Fig. 3 Hydroptic ZSCA03

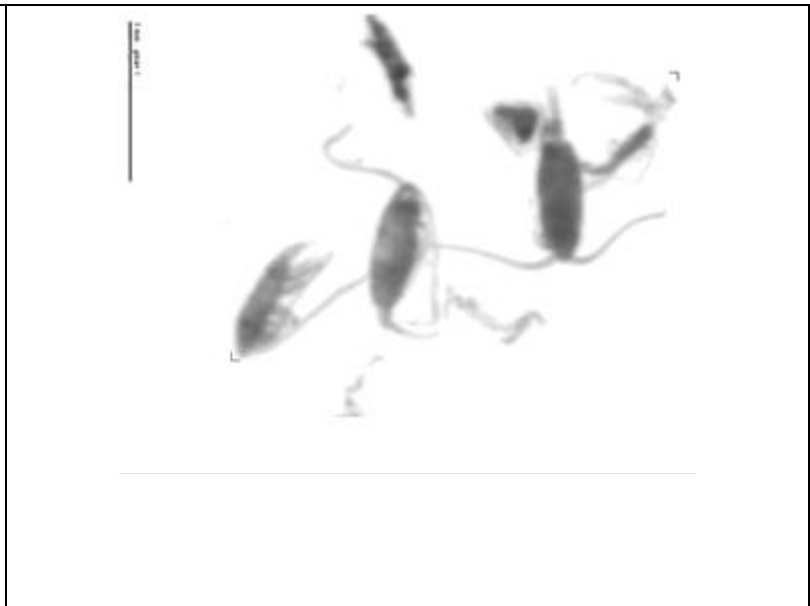


Fig. 4 Vinjett med flere Copepoda der antennene er under eller henger sammen med andre individer vil regnes som ett objekt.

### 2.1.2.1 EcoTaxa bildegjenkjenningsprogramvare:

EcoTaxa er en egen nettside, [www.ecotaxa.obs-vlfr.fr](http://www.ecotaxa.obs-vlfr.fr) hvor vinjetter, tabeller og filer generert av ZooProcess kan leses opp (Picheral, Colin, Irssom 2017). Her brukes et bildegjenkjenningsprogram til å identifisere f.eks. dyreplankton basert på form, størrelse, gjennomsiktighet og lignende.

Når data er lastet opp kan det lages et nytt læresettt med bilder eller man kan bruke et eksisterende læresettt fra lignende prosjekt. Læresetttet er en database av vinjetter som er validert til å tilhøre de gruppene eller artene av dyreplankton som er av interesse. Programmet bruker bildegjenkjenning for å sortere vinjettene som du har lastet opp basert på læresetttet.

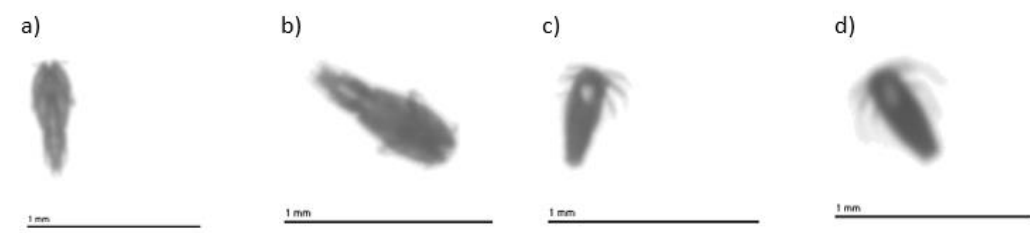


Fig. 5 Vinjetter fra dyrkede kulturer. a) skottelus voksen b) lakselus voksen c) skottelus nauplius d) lakselus nauplius

Det er nødvendig å bygge et godt læresettt for at algoritmen skal gjenkjenne lusestadier selvstendig. Vi dyrket derfor opp rene kulturer av skottelus og lakselus hvor alle stadier var representert. Kulturene ble behandlet som egne prøver og lastet opp til EcoTaxa. Alle vinjettene fra de rene kulturene ble verifisert inn i en av fire grupper, figur 5.

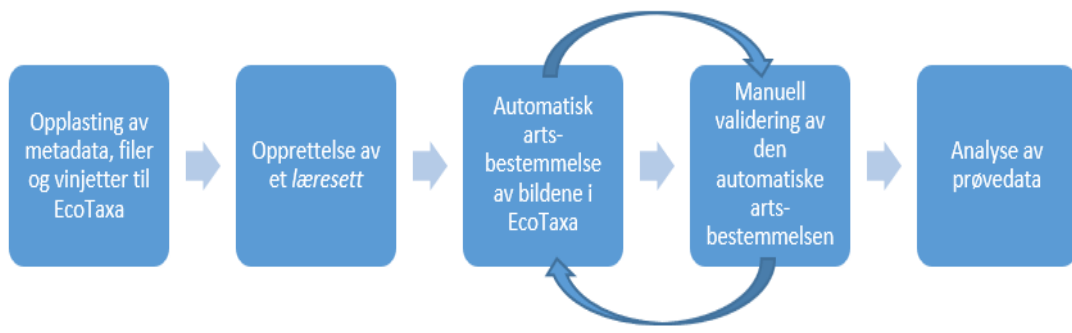


Fig. 6 Skissering av databehandlingsprosessen i EcoTaxa

Som det fremgår av figur 6 blir den automatiske artsbestemmelsen i EcoTaxa kjørt i flere omganger etter manuelle valideringer av prediksjonene. Dette er fordi man helst skal ha minst 50 objekter per kategori for å få en god bildegjenkjenning (Picheral et.al. 2017).

### 2.1.2.2 Data analyse:

Prøvene sammenlignes visuelt (figurer) og statistisk mht. antall lus mot annet plankton, dybde og sesong/dato. Andre miljøfaktorer (f.eks. værforhold, CTD data, strømmålinger, antall lus på fisk) kan trekkes inn i analysen ved behov.

### 2.1.3 Identifisering av faste og voksne stadier av skottelus på laks

For å undersøke mulige sammenhenger mellom infestasjonspres av skottelus på laks, smittepres av skottelus i sjø og villfiskforekomst rundt merd, ble det gjennomført stadiespesifikke skottelustellinger.

Telling og registrering av skottelus på laks er ikke et krav i gjeldende regelverk. Lerøy Aurora har likevel etablert interne rutiner for telling av skottelus, men registrering omfatter kun voksne stadier da voksne skottelus er enkle å skille fra voksne lakselus. De fastsittende skottelusene (chalimus 1-4) er imidlertid krevende å skille fra faste stadier av lakselus (chalimus 1+2), og differensiering på art gjøres derfor ikke for disse stadiene. I stedet telles faste stadier av begge artene samlet og registreres som "fastsittende lakselus". En slik fellesregistrering av faste stadier av begge arter gjør det ikke mulig å hente ut artsspesifikt tallmateriale på forekomst av fastesittende stadier av de enkelte artene.

Fiskehelsepersonell og driftspersonell i Lerøy Aurora fikk derfor opplæring i å skille faste laks- og skottelus fra hverandre. Ukentlige tellinger ble gjennomført på 20 individer av «snittfisk» i merdene 1167 + 1189 i perioden 30.september til 17.november (uke 40-47).

Fisk ble fanget ved bruk av avkastnot eller "storhåv" i merd, håvet til tellekar og sedert (Benzoak®) for gjennomføring av lusetelling. Differensiering av fastsittende laks- og skottelus ble gjort ved å "vugge" enkeltfisk under vann i tellekaret, og observere bevegelsesmønsteret til lusa i festepunktet på laksens hudlag. Artene kan skilles fra hverandre ved at faste stadier av skottelus er bedre festet til verten. Skottelusa snurrer derfor rundt sin egen akse i festepunktet (sirkulær bevegelse) på fisken når fisken beveges frem og tilbake under vann.



Bilde 1: Fastsittende lusestadier på fisk. Faste stadier av hhv lakselus og skottelus kan skilles fra hverandre ved å gjennomføre "vuggestest" under vann og observere parasittens bevegelse rundt festpunkt på fiskens hudlag.

Det ble også hentet inn tallmateriale tilknyttet lusetellinger fra Fishtalk/Lerøy Aurora.

#### 2.1.4 Kartlegging av villfiskforekomst

Kameraovervåking ble benyttet for kartlegging av villfiskforekomster på lokalitet. Målet var ikke en nøyaktig kartlegging av antall, men en eventuell endring i type/mengde villfisk ved lokaliteten. Dette ble gjort med tanke på å undersøke sammenhenger mellom endringer i villfiskforekomst og endringer i antall/stadier av skottelus på lokaliteten. Ett kamera ble plassert på 11 m dyp ca. 5-7 m fra notvegg på enhet M72. Kamera ble flyttet til enhet M67 den 30. oktober, grunnet utslakt. Kameraet kunne roteres 360° ved hjelp av fjernstyring. Dybdeintervallet som kunne observeres var fra overflate til ca. 3 m under kamera, dvs. ca. 0-14 m dybde. Omtrent ¼ av notas sideflate var synlig. Personell ved lokaliteten gjennomførte observasjon av villfisk 3-4 ganger daglig. Det ble notert ca. antall og type villfisk, samt om det ble fôret eller ikke ved observasjonstidspunktet. Observasjoner ble gjort daglig i perioden 1. oktober - 10. november 2019, med unntak av dager med dårlig vær eller teknisk svikt (5.-7. okt).



Bilde 2: Stillbilde fra videokamera som viser laksestim i not og villfisk som oppholder utenfor notvegg.

## 3 Resultater og diskusjon

### 3.1 ZooScan

#### 3.1.1 Resultater

Figur 7 viser dybdefordelingen av lakse- og skotteluslarver i sjø på prøvetakingsdatoene 26. september, 18. oktober og 14. november 2019. Kopepodittstadiet ble ikke identifisert i noen av prøvene. I september var nauplier av lakse- og skottelus til stede i alle dybdeintervallene. Det var mest larver fra 50-15 meter, noe mindre i overflaten (15 til 0 meter) når vi justerer for volum, og minst lus i den dypeste delen av vannsøylen (100 til 50 meter). I oktober ser bildet litt annerledes ut. Når vi ser vannsøylen under ett, 100 til 0 meter, var det flere luselarver i vannmassene i oktober enn i september, men i prøvene fra de ulike dybdeintervallene er det mindre nauplier i alle intervallene i oktober enn i september. Prøvene fra 100 til 50 meter og 50 til 15 meter ser relativt like ut i oktober, mens vi ikke fant noen luselarver i dybdeintervallet 0 til 15 meter. Novemberuttaket skiller seg fra de øvrige uttakene med svært lave forekomst av larver. Vi fant kun en nauplius fra lakse- og skottelus i øverste vannlag (0-15 m), og ingen individer ved øvrige dyp.

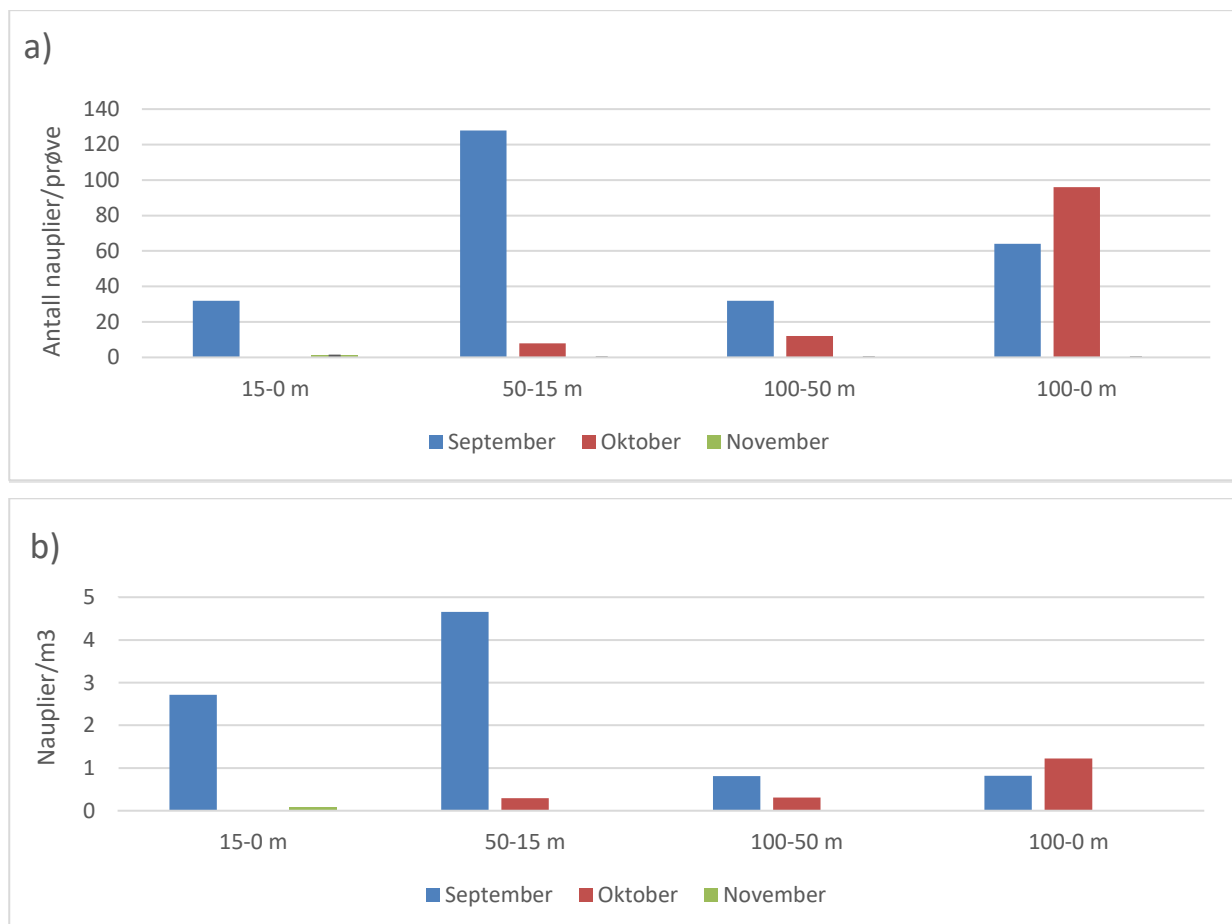


Fig. 7 a) Antall nauplier av lakse- og skottelus per prøve fordelt på dybdeintervall og måned. b) Antall nauplier av lakse- og skottelus per kubikkmeter vann. Prøvetakingsdatoer: 26. september, 18. oktober og 14. november 2019. Tallene er basert på gjennomsnitt av analyse to delprøver. Prøvetakings- og måleusikkerheten knyttet til figuren er beskrevet i kapittel 3.1.2 Diskusjon ZooScan – dataanalyse.

Fra Septemberprøven som ble tatt fra fra 100 til 0 meter ble også 1/16 av prøven tatt ut og telt manuelt. Vi fant da totalt 5 naupliier. Det tilsier at det skal være totalt 80 naupliier i prøven og 1 nauplii per kubikkmeter vann. Dette er ganske likt resultatet fra ZooScan-analysen som viser 64 naupliier i prøven og 0,8 naupliier per kubikkmeter vann, her ble 2 delprøver à 1/128 analysert.

### 3.1.2 Diskusjon ZooScan – dataanalyse

Lakse og skottelusnaupliier artsbestemmes og skilles fra hverandre og fra andre luselarver på svarte og brune pigmenttegninger på kroppen (Schram 2004). En konsekvens av fiksering er at pigmenteringen svekkes over tid. I prøvematerialet fra Sessøya var dessverre pigmenteringen såpass redusert på analysetidspunktet at det ikke var mulig å skille skotte- og lakselus naupliier fra hverandre, og resultatene er derfor fremstilt samlet for begge arter.

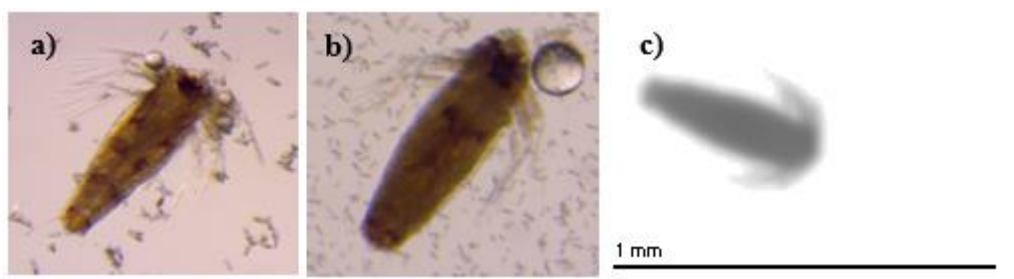


Fig 10. **a)** Bilde av Skottelus nauplius II tatt i stereolupe, bilde er tatt like etter fiksering med 4 % formalin. **b)** Bilde av Lakselus nauplius II tatt i stereomikroskop, bilde er tatt like etter fiksering med 4 % formalin **c)** Nauplius av lakse- eller skottelus fanget mellom 100-50 meter ved Sessøya i oktober 2019. Bildet er fra ZooScan og er tatt ca en uke etter at prøven ble tatt og fiksert på saltsprit.

Før analyse av den enkelte vannprøve var det nødvendig å splitte de i mindre fraksjoner/delprøver for å redusere partikkelinnhold. Minst 2 delprøver ble analysert for hver prøve, med unntak av november dybdeintervall 50-15 og 15-0 meter som ble analysert i sin helhet i en scan, se tabell 3. I disse prøvene fant vi kun en naupliie i den ene prøven og ingen i den andre. I øvrige prøver ble mellom 1/4 del og 1/64 del av prøvene analysert.

Tabell 3 Oversikt over størrelsen på delprøvene som ble analysert.

Prøvetakings-måned	Prøvetakings-dyp	Delprøve 1	Delprøve 2	Total andel av prøven som ble analysert
September	100-0 m	1/128	1/128	1/64
September	100-50 m	1/64	1/64	1/32
September	50-15 m	1/128	1/128	1/64
September	15-0 m	1/64	1/64	1/32
Oktober	100-0 m	1/64	1/64	1/32
Oktober	100-50 m	1/8	1/8	1/4
Oktober	50-15 m	1/8	1/8	1/4
Oktober	15-0 m	1/32	1/32	1/16
November	100-0 m	1/8	1/8	1/4
November	100-50 m	1/8	1/8	1/4
November	50-15 m	1/1	-	1/1
November	15-0 m	1/2	1/2	1/1

Det ble ikke funnet nauplier fra lakselus og skottelus i alle delprøvene, og i prøver hvor nauplier ble identifisert fant vi stort sett kun ett individ. Unntaket er delprøve én fra 100-0 meter i oktober hvor det var 3 individer, mens det i delprøve to fra samme dybdeintervall ikke ble funnet noen nauplier fra lakse- og skottelus (se figur 8). Når hver av delprøvene representerer 1/64 del av vannvolumet utgjør det å finne 3 eller 0 individer en stor påvirkning på sluttresultat. Beregning som hensyntar funn i delprøve én gir totalantall 192 nauplier i hele prøven og 2,4 individer/m<sup>3</sup> vann, mens delprøve to tilsier fravær av nauplier. For å justere for denne usikkerheten har vi i datasettet beregnet totalantall i den enkelte prøve basert på gjennomsnittet av delprøvene som ble analysert.

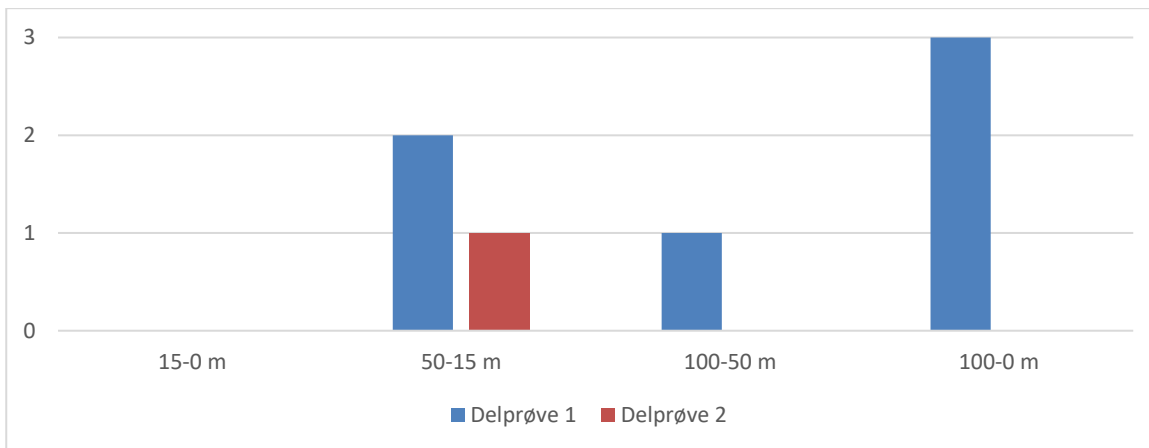


Fig. 8 Sammenligning av antall individer av lakse- og skottelus naupliier i delprøve 1 og delprøve 2 fra oktober 2019

Av totalt >25.000 bilder fra samtlige prøver som ble analysert i Zooscan er kun 14 individer identifisert som lakse- eller skottelusnauplier. Våre undersøkelser indikerer at nauplier fra lakse- og skottelus utgjør en svært liten del av det totale planktonsamfunnet ved Sessøya. Av det totale antallet partikler som ble analysert utgjorde alle naupliier 1,03 %, men kun 0,06% av disse ble identifisert som lakse- og skottelus nauplier, se figur 9. Mer enn halvparten av alle partiklene i prøvene var døde partikler som blant annet fiber og dødt organisk materiale.

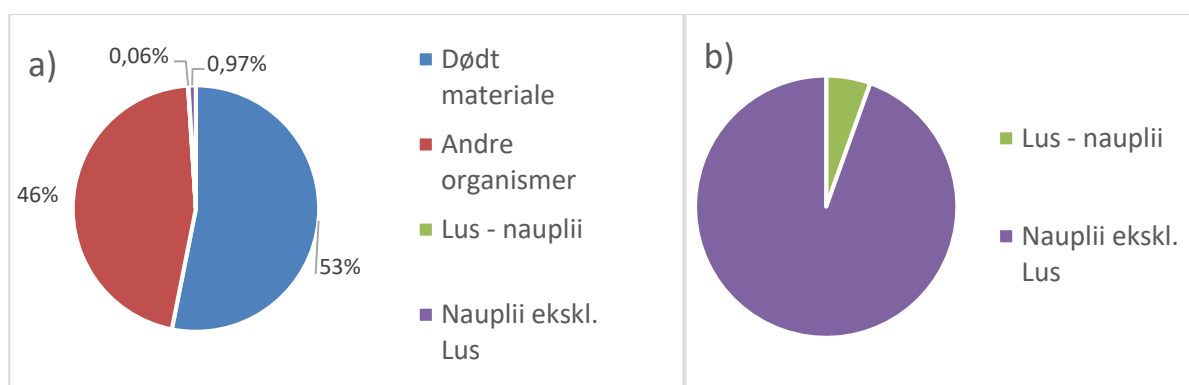


Fig. 9 a) Nauplii-andelen av totale partikler i den analyserte andelen av alle prøvene tatt ved Sessøya høsten 2019. b) Andelene lakse- og skottelusnaupliier i naupliisamfunnet basert på alle prøver fra Sessøya høsten 2019.

Når vi ser figur 7, 8 og 9 og tabell 3 i sammenheng ser vi at vi finner lus i alle dybdeintervallene, men antallet er svært lavt og naupliene til lakse- og skottelus utgjør en svært liten del av det totale planktonsamfunnet, figur 9. Dette utgjør en betydelig

teknisk/metodisk utfordring da vi/datamaskinen sortere bort øvrige organismer og partikler før vi støter på ett av de individene vi leter etter. I flere av prøvene er også partikkelinnholdet svært høyt, og materialet må oppløses før Zooscan kan benyttes. Splitting av vannprøvene i mindre delprøver med motoda planktonsplitter er en god metode for å få et overblikk over den totale planktonforekomsten, men når naupliene utgjør en såpass liten andel av planktonsamfunnet og det i tillegg er en del rusk i prøvene, fører splittingen av prøver likevel til telleusikkerhet. For å imøtegå dette ble det analysert to delprøver for hver prøve, og totalantall ble beregnet på bakgrunn av gjennomsnitt i enkeltprøvene. Også en slik tilnærming gav svært variable resultater og sluttresultatene må tolkes med forsiktighet. Videre metodeutvikling må ha som mål å redusere denne måleusikkerheten.

## 3.2 Lus på fisk

### 3.2.1 Totalt antall skottelus i alle enheter

Data fra lusetellinger høst 2019 viste at påslagene av skottelus tiltok i august og vedvarte til lokaliteten ble slaktet ut i november. Mengden lus varierte i perioden, men var høyest siste uka i september til midten av oktober (uke 39-42). Funnet sammenfaller med tall fra oppdrettslokaliteter i Nord Norge 2017-2018, hvor forekomsten av skottelus er høyest ukene 35-45 (Akvaplan-niva FHF rapport 901539) og vedvarer på tross av fallende temperatur inn i vinter (Imsland m.fl., 2018).

Det var et tilnærmet likt trendbilde for infeksjonspress av skottelus i alle enheter på lokaliteten, med unntak av tellinger i enhet 1165 hvor det i uke 41 ble registrert en betydelig høyere forekomst enn i de øvrige merdene.

Generelt betraktes infestasjonsgrad av skottelus på fisk på Sessøya høst 2019 som moderat/lav. Høyeste snittregistrering av skottelus på enkeltmerdnivå var 7,3 lus (enhet 1165, uke 41). Denne registreringen omfattet også faste stadier av lakselus da merden ikke var gjenstand for differensierte tellinger. Øvrige enheter hadde betydelig lavere makspåslag (< 2,95).

Fisk på Sessøya ble avluset med lusespyler i uke 37 (med unntak av en enhet som ble avluset uke 39). Behandling ble gjennomført på indikasjon lakselus. Man ser imidlertid at behandlinga også hadde god effekt på skottelus, men at forekomsten av skottelus økte kun 2 uker etter behandling. Man ser videre at det er voksne skottelusindivider som dominerer lusepopulasjonen på fisk (fig. 10). Skottelus har en forventet generasjonstid lik 3 uker fra chalmus I til adult ved 10°C (Piasecki & McKinnon 1995). Sjøtemperaturen uke 37 var 11°C og 8,9°C i uke 41. Det er derfor lite sannsynlig at den voksne skotteluspopulasjonen på laksen uke 40 er utviklet fra nypåslag med kopepoditter etter avlusing. En årsak til overvekt av voksne individer kort tid etter behandlingsgjennomføring kan være direkte påslag av frittsvømmende voksne individer enten fra villfiskpopulasjon eller re-påslag av individer som har falt av laksen under lusebehandling. Det er kjent at frittsvømmende voksne skottelus har lengre overlevelse og er betydelig bedre svømmere en lakselus, og at de kan hoppe fra en vert til en annen (Øines m.flere., 2006; Hemmingsen m.flere.2020).



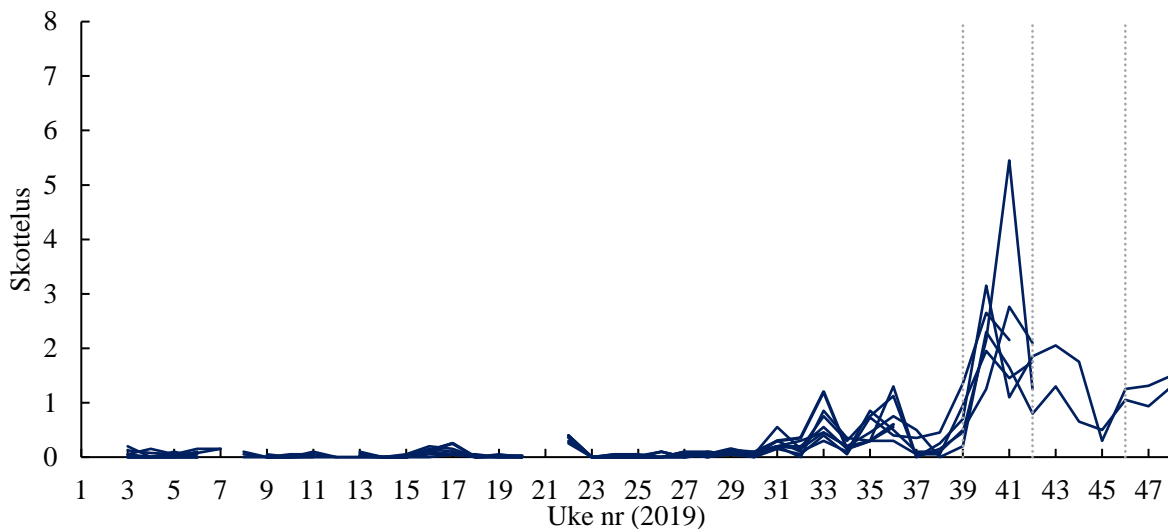


Fig.10a: Gjennomsnittlig antall voksne skottelus per fisk per uke ved lokaliteten Sessøya i 2019. Frem til uke 41 er fastsittende skottelusstadier definert som fastsittende lakselus. Etter dette er det telt differensiert på 2 av enhetene.

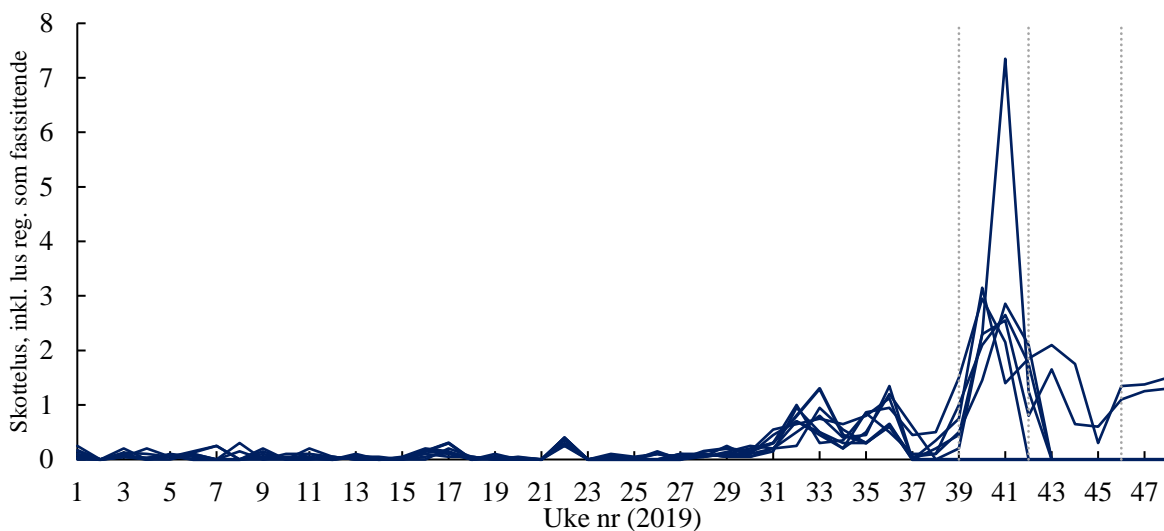


Fig.10b: Samme som over, men tallmateraiet omfatter påslag av både fastsittende lakse og skottelus + voksne skottelus.

### 3.2.2 Differensiert skottelustellinger – faste og voksne stadier – 2 enheter

For å studere infestasjonspress og populasjonsdynamikk ble det gjennomført stadiespesifikke skottelusetellinger i to enheter i perioden uke 40-47.

Da registreringene startet opp i uke 40 var infestasjonspresset av skottelus på høyeste nivå. Begge enhetene hadde et tilnærmet likt infestasjonsbilde, med generelt lave mengder skottelus/fisk og fallende forekomst gjennom måleperioden fra oktober til november (Fig 11). Voksne individer dominerte lusepopulasjonen i begge merder.

Funnene sammenfaller med vannprøvene som viste høyest smittepress av luselarver i september og oktober (laks- og skottelus). En overvekt av voksne skottelus på laksen kan skyldes direkte påslag av voksne individer fra vannmassene, enten fra villfisk (vertshopping) eller frittsvømmende stadier i vannmassene. Det ble imidlertid ikke funnet frittlevende voksne



stadier av skottelus i noen av vannprøvene som ble analysert, noe som ville underbygget en slik teori. Overvekten av voksne individer kan også skyldes at levetiden til voksne lus er lengre enn utviklingstiden til faste stadier og det blir en akkumulering av voksne individer når en skotteluspopulasjon har etablert seg på laksen.

Dessverre var det ikke mulig å skille laks- og skotteluslarver fra hverandre i vannprøvene, og det foreligger derfor ikke tallmateriale fra vannanalysene som gir grunnlag for å studere sammenhenger mellom smittepress av skottelus i sjø og forekomst av skottelus på laks.

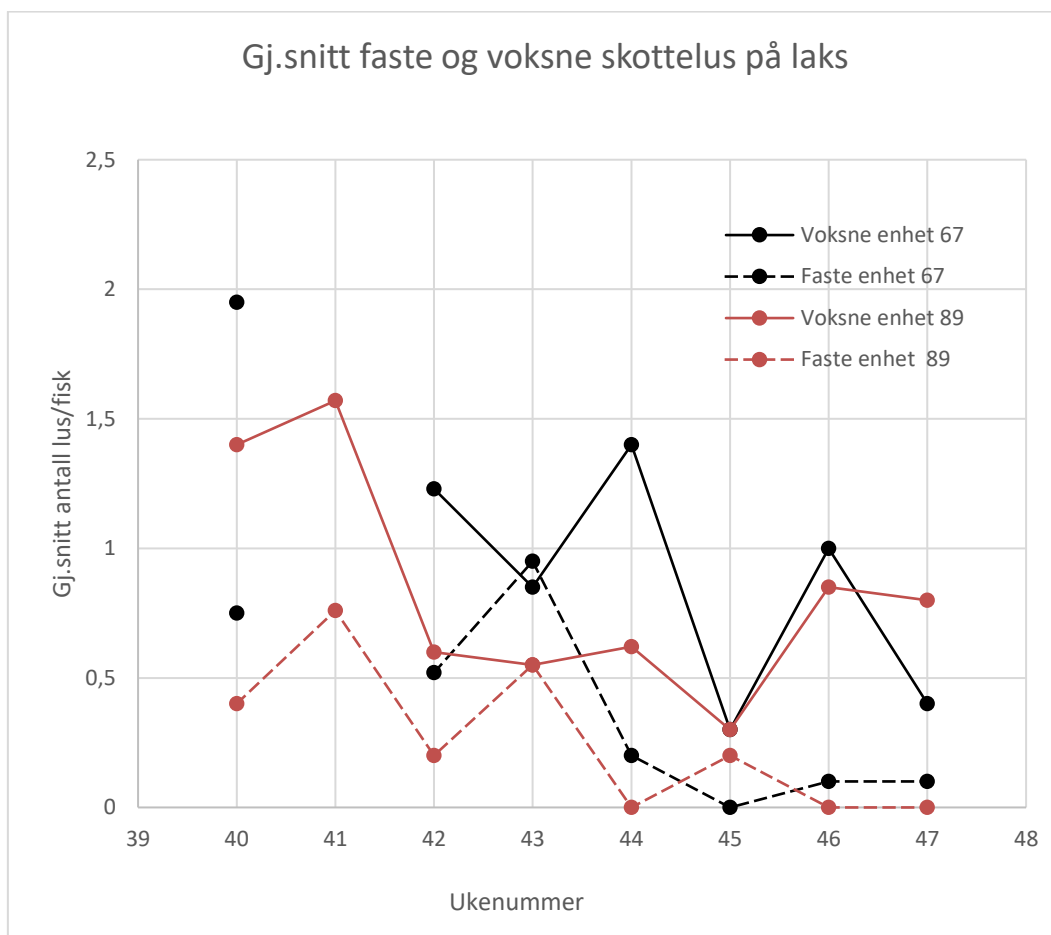


Fig 11: Gjennomsnittlig antall skottelus av hhv. voksne og fastsittende stadier på fisk i enhetene 67 og 89. Tallmaterialet er hentet fra ukentlige lusetellinger i perioden 3. oktober til 17. november. Stiplet linje angir tidspunkt for håvtrekk.

Tidsserien i denne piloten er begrenset og kom i gang da det allerede var en etablert skotteluspopulasjon på laksen. Den omfatter heller ikke differensierte tellinger fra avlusningstidspunkt, noe som ville gitt oss et 0-punkt og gjort det mulig å kartlegge hvilke stadier som dominerer på laksen i en påslagsfase og videre populasjonsdynamikk. Oppfølgende prosjekter må ha som mål å inkludere dette.

### 3.3 Forekomst av villfisk rundt merd

Villfisk som ble observert på utsida av merda besto i hovedsak av sei, men det var også noen torsk og mindre stimer av pelagiske fisker nært overflaten. Observasjonsområdet var ca. 0 -

14 m dybde og ca. ¼ av notas sideflate. Når antallet villfisk var over 30 - 40 stk. var det utfordrende å telle, så tallene må betraktes som anslag.

Det var ingen tydelig forskjell på antall fisk under fôring vs. utenom fôringstid. Også under sulting av fisken før slakt ble det observert sei rundt merda, som tilsynelatende spiste feces. I denne perioden (uke 43) ble det også observert mye sei på lokaliteten generelt sett, uten at dette ble kvantifisert i flere enheter (Fig. 12A).

De høyeste antallene av registrert sei var i uke 41, 43 og 45. Små økninger i antall skottelus rundt disse observasjonspunktene kan være indikasjoner på at antall villfisk rundt merdene påvirker skottelustallene, men utslagene er for små til at det kan konkluderes (Fig. XB). Det største påslaget skjedde i uke 38-39. Dette var dessverre før kameraobservasjonene ble påbegynt.

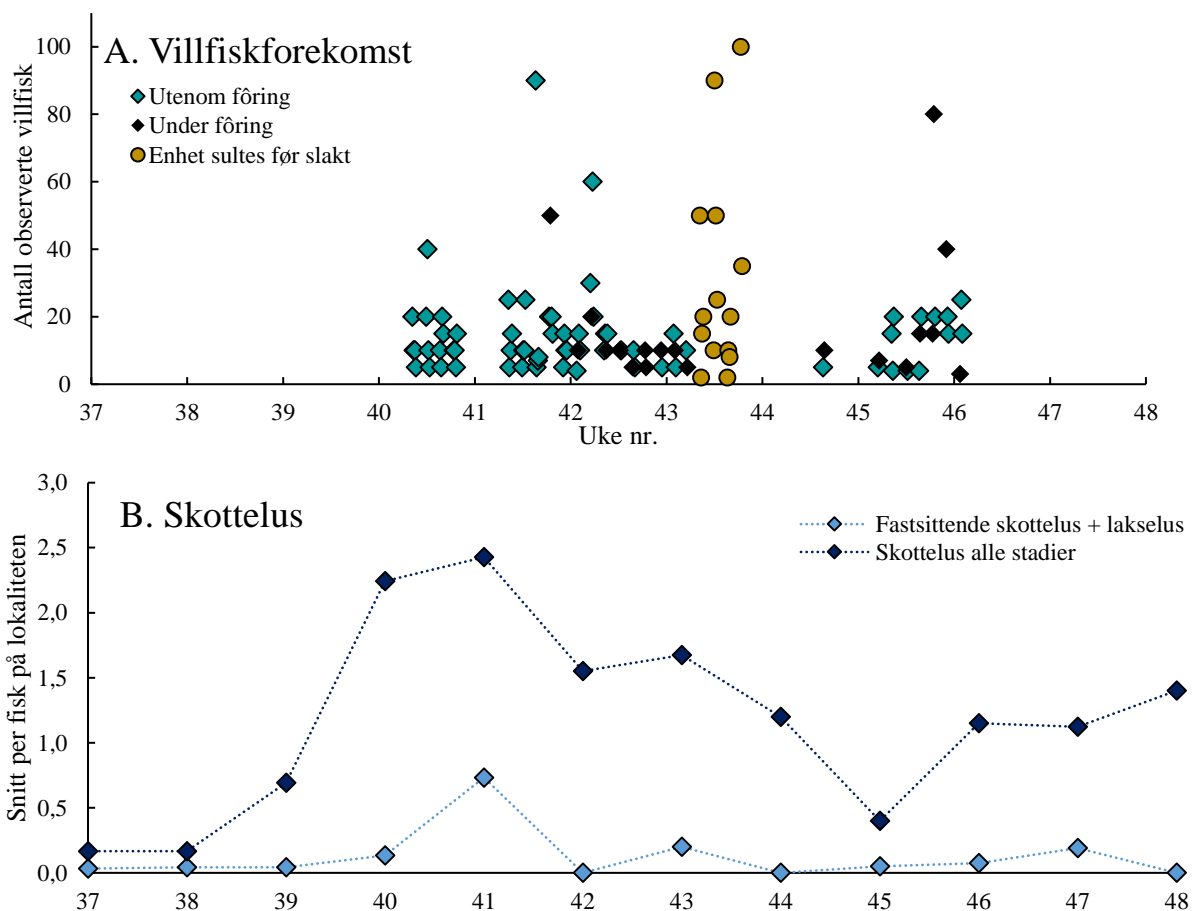


Fig.12. A. Antall observerte villfisk (hovedsakelig sei) ved de ulike observasjonstidspunktene (3-4 ganger daglig). B. Gjennomsnittlig antall skottelus per fisk per uke på lokaliteten. Frem til uke 41 er fastsittende skottelusstadier definert som fastsittende lakselus. Etter dette er det telt differensiert på 2 av enhetene



## 4 Videre arbeid

---

Hovedmålet med pilotprosjektet har vært å opparbeide erfaring med tanke på videreutvikling og optimalisering av en egnet metodikk for vannprøvetaking og identifikasjon av planktoniske stadier av skottelus og lakselus i vannmasser ved bruk av ZooScan.

Erfaringer fra pilotprosjektet har identifisert følgende følgende forbedringspunkter:

### Feltarbeid/prøveuttak

- Det vil være svært nyttig om man ved uttak i felt klarer å redusere generelt partikkelinnhold i vannprøvene eks. meduser, dødt materiale. En slik "raffinering" av prøvene i felt må sikre at luselarver eller voksne frittsvømmende individer ikke går tapt. En grovsil kan evt benyttes.
- Erfaring med skotte og lakseluslarver tiliser at de er gode til å suge seg fast på overflater. Det er derfor vanskelig å få dem ut av nett, sylinder og sikt under prøvetaking.
- Det er usikkert hvor gode svømmere kopepodittene er. Kan de bli stående motstrøms ved bruk av pumpe, og kan de svømme unna dersom det oppstår en bølge-effekt ved for rask opptrekking av planktonnettet ?
- Prøver bør oppbevares kjølig fra uttakstidspunkt til analyse for å optimalisere kvalitet på prøvemateriale.

Generelt bør det sonderes på alternative metoder for innsamling av prøvemateriale eks. bruk av vannpumpe. Lusefeller plassert ved ulike dyp kan også være en metode. Bruk av hydrooptics-instrument som tar bilder av levende individer i vannsøyle kan også være en alternativ metode til vannprøvetaking.

### Preparering og fiksering av prøver:

- Tap av pigment som følge av fiksering og lagring av vannprøver er en utfordring for identifiseringsarbeidet. For å redusere pigmenteringstap bør vannprøvene analyseres i løpet av få dager etter uttak (samme uke).
- Andelen skottelus/lakseluslarver utgjør en svært liten del av det totale planktonsamfunnet, og i tillegg er det totale partikkelinnholdet i vannprøvene ofte høyt. For å få god kvalitet på Zooscan-analysen må prøvene fortynnes ned, og analyseres som delprøver noe som kan gi stor feilmargin til resultatet. Videre metodeutvikling må ha som mål å øke presisjonen på analysene. Dette kan omfatte raffinering av prøvemateriale i felt (fjerne uønskede partikler). Det bør også sonderes på om det finnes *grovmarkører* som kan benyttes for å sortere ut relevant materiale fra vannprøvene før scan, eller sentrifugeringsmetoder som gjør det mulig å fjerne/separere ut partikler som ikke er av interesse.

### Zooscan-metodikk:

- Videreutvikle læresettt for øvrige naupliier i vannmassene for effektivt å kunne skille disse fra lakselus/skottelusneupliier.
- Etablere læresettt av lakselus og skottelus som omfatter flere grader av pigment-tap etter fiksering.

### Prosjektdesign generelt:

Et fremtidig prosjekt bør omfatte en lengre prøvetakingsperiode (vannprøvetaking+ differensierte skottelustellinger + villfiskobservasjoner), og i sin helhet favne tidspunkt for kjent økende infestasjonspress av skottelus i Nord Norge (august til desember). Videre vil det være viktig å studere endringer i populasjonsdynamikk på laks og smittepress i sjø i tilknytning til avlusingsoperasjoner.

Prøvetaking i vannmasser bør gjennomføres hver 14. dag for bedre å kunne studere sammenhenger mellom smittepress i sjø og infestasjonspress på laks.

For større presisjon på villfiskobservasjoner kan flere målepunkter inkluderes. Kameraobservasjonene bør muliggjøre identifisering av artssammensetning villfisk og muliggjøre observasjon av skottelus på villfisken.

Det bør vurderes å inkludere lokalitet som benytter luseskjørt i kartleggingen for å studere effekt av luseskjørt på forekomst av skottelus og smittepress i sjø.

# Referanser

---

- Hemmingsen, W., Sagerup, K., Remen, M., Bloch-Hansen, K., and Imsland, A. K. D., 2020. *Caligus elongatus* and other sea lice of the genus *Caligus* as parasites of farmed salmonids: A review. *Aquaculture*, **522**: 735160.
- Imsland, A.K., Hanssen, A., Reynolds, P., Nytrø, A.V., Jonassen, T.M., Hangstad, T.A., Elvegård, T.A., Urskog, T.C., Mikalsen, B. 2018. It works! Lumpfish can significantly lower sea lice infections in large scale salmon farming *Biology Open* 7, 7, bio036301. doi:10.1242/bio.036301
- Imsland, A.K., Sagerup, Kjetil., Remen, Mette., Bloch-Hansen, Karin., Hemmingsen, Willy., Myklebust, Ann Elisabeth., FHF-Rapport 60795: Kunnskaps- erfaringskartlegging av skottelus, 2019.
- Piasecki, W., 1996. The developmental stages of *Caligus elongatus* von Nordmann, 1832 (Copepoda: Caligidae). *Can. J. Zool.* 74, 1459-1478.
- Picheral, M., Colin, S., Irisson, J-O., 2017. EcoTaxa, a tool for the taxonomic classification of images. <http://ecotaxa.obs-vlfr.fr>.
- Picheral, M., Elineau, A., 2020. Zooscan manual to scan and process samples. Quantitative Imaging Platform of Villefranche sur Mer (PiQv)
- Schram, T.A., 2004. Practical identification of pelagic seal lice larvae. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 84, 103-110.
- Øines, Ø., Simonsen, J., Knutsen, J., and Heuch, P., 2006. Host preference of adult *Caligus elongatus* Nordmann in the laboratory and its implications for Atlantic cod aquaculture. *Journal of Fish Diseases*, **29**: 167-174.