

Smitteforsøk med *Lepeophtheirus salmonis*
på
Oncorhynchus gorbuscha og *Salmo salar*



Annette Enoksen

Masteroppgave i fiskehelse

Institutt for biovitenskap

Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet

UNIVERSITETET I BERGEN

28. august 2023

Forord

Denne masteroppgaven er skrevet som en avslutning på «Profesjonsstudiet i fiskehelse – akvamedisin» våren 2023. Arbeidet er utført ved det matematisk-naturvitenskapelige fakultet (Institutt for biologi) ved Universitetet i Bergen (UiB).

Jeg ønsker å rekke en stor takk til min hovedveileder Frank Nilsen (Universitetet i Bergen). Tusen takk for god hjelp og oppfølging til siste innsjutt. Det har vært en meget interessant og lærerik tid! En stor takk til dere som hjalp meg med smitteforsøk på ILAB; Lars Are Hamre (for uvurderlig hjelp på lab og med Excel), Per Gunnar Espedal og Christiane Eichner. Tusen takk til Pavinee Nimmongkol som har gitt meget god opplæring på formalinlab og histolab.

Mine medstudenter takkes for en fin studietid i Bergen. En spesiell takk til Anette og Lisa og de andre på lesesalen!

Til slutt ønsker jeg å takke familie, venner og hunden min Lykke for å ha støttet meg i løpet av alle årene med studier og gitt meg oppmuntring. Det har vært meget interessant å lære seg å skrive en masteroppgave, og faktisk ha fullført det! Mulig jeg tar en pause fra studenttilværelsen for en stund, men jeg skal aldri si aldri!

Bergen 28. juni 2023

Annette Enoksen

Sammendrag

Lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) er en blodspisende ektoparasittisk copepoditt som er å finne på den nordlige halvkule der den infiserer ulike laksefiskearter. Det er lite kunnskap kjent om lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) som har infisert ikke kjønnsmoden pukkellaks, vil kunne infisere atlantisk laks. Ulike medfødte immunresponser der lakselusen fester seg fører til ulik mottakelighet blant arter, dette gjør at fisk fra *Salmo* spp. er mer utsatt for infeksjon enn noen av *Oncorhynchus* spp.

Pukkellaks (*Oncorhynchus gorbuscha*) er en fiskeart som regnes som en fremmed art i Norge med stort invasjonspotensiale. Den regnes som den minste av pukkellaksene, og har sin naturlige utbredelse i det nordlige Stillehavet. Pukkellaks gyter i flere elver langs hele Norskekysten og forlater elven kort tid etter klekking og vil da være eksponert for lakselus på sin vandring ut i havet.

Hovedmålet med denne studien var å teste om copepoditter av lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) som har vært festet på pukkellaks (*Oncorhynchus gorbuscha*) kan smitte og etablere seg på atlantisk laks (*Salmo salar*) eller om de er døde eller svekket av pukkellaksens vertsrespons, og av den grunn ikke vil kunne smitte atlantisk laks. Tross høy smittedoser klarte ikke atlantisk lakselus å etablere seg på pukkellaks, og det ble kun funnet copepoditter og chalimus I på fisken. Derimot klarte lakselus å smitte og etablere seg på atlantisk laks etter å ha vært festet på pukkellaks.

Det er i tillegg tatt histologiske hudprøver med og uten lus fra pukkellaks og atlantisk laks for å sammenligne en eventuell vertsrespons. Det ble ikke funnet tegn til vertsrespons på histologiske undersøkelser av pukkellaks og atlantisk laks infisert med lakselus.

Forkortelser

Forkortning	Forklaring
AA	Anterior abdomen
AB	Anterior back
AN	Analfinne
BM	Tilstøtende basalmembran
Ch I	Chalimus I
Ch II	Chalimus II
DO	Dorsalfinne
DPI	Days post infection
EPI	Epidermis
FB	Fast bindevev
HYP	Hypodermis
LB	Løst bindevev
P	Pigmentlag
PA	Posterior abdomen
Pa I	Preadult I
PB	Posterior back
PC	Pektoralfinner
PL	Bukfinner
S	Skjell
SC	Slimceller
SL	Skjellommer
SLRC	Sea Lice Research Center

Innholdsfortegnelse

1	Introduksjon	7
1.1	Lakselus – generelt	9
1.2	Teleosters hud – sår og sårtilheling	11
1.3	Vert – parasitt interaksjon	13
1.4	Behandling og kontroll av lakselus	14
1.5	Verter til lakselus	16
1.5.1	Atlantisk laks	17
1.5.2	Pukkellaks	19
1.6	Målsetting.....	21
2	Material og metode	23
2.1	Forsøksoppsett og tidslinje	23
2.2	Smitteforsøk.....	24
2.2.1	Innledende forsøk	24
2.2.2	Hovedforsøk	24
2.2.3	Ekstra smitteforsøk	25
2.3	Modellarter	25
2.3.1	Fisk	25
2.3.2	Lakselus	25
2.4	Oppfølging av lakselus og forsøksfisk	25
2.4.1	Vannkvalitet.....	25
2.4.2	Kultivering av lakselus	26
2.4.3	Bedøvelse og håndtering av fisk.....	26
2.4.4	Uttak av fisk og lus	27
2.5	Histologiske analyser.....	29
2.6	Statistiske analyser	29
3	Resultater	31
3.1	Pukkellaks og atlantisk laks infisert med <i>Lepeophtheirus Salmonis</i>	31
3.1.1	Prøveuttak tank 1 – pukkellaks (<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>)	31
3.1.2	Prøveuttak tank 2, 3 og 4 – Atlantisk laks (<i>Salmo salar</i>)	35
3.1.3	Sammenligning av lakselusdata fra pukkellaks og Atlantisk laks	38
3.2	Filterdata.....	41
3.3	Histologi.....	45
4	Diskusjon	48
4.1	Hudområder der lakselusen hadde festet seg på Atlantisk laks	50
4.2	Vertsreaksjon i hud ut ifra histologiske undersøkelser	52
5	Konklusjon	54
6	Referanseliste	55
7	Appendiks	63
7.1	Appendiks A – Vekt og lengde	63
7.1.1	Innledende forsøk	63
7.1.2	Hovedforsøk	64
7.2	Appendiks B – Punkter for lakselus festet til Pukkellaks og Atlantisk laks.....	67

7.2.1	Innledende forsøk	67
7.2.2	Hovedforsøk	68
7.3	Appendiks C – Stadielinndeling av lakselus funnet på fisk.....	72
7.3.1	Pukkellaks.....	72
7.3.2	Atlantisk laks	73
7.4	Appendiks D – Filterdata	74
7.4.1	Filterdata	74
7.4.2	Utrekning som ligger til grunn for figur 15 og figur 16.	76
7.5	Appendiks E – Histologisk prosedyre	77

1 Introduksjon

Den norske kystlinjen er verdens nest lengste med en lengde på ca. 24 000 km, inkludert øyer måler den over 102 000 km. Sjøarealet rommer mange arter, og gir gode forhold og muligheter for oppdrett av fisk. Den norske regjeringen har vedtatt fremtidig vekst innen oppdrettsnæringen, forutsatt at det gjennomføres på en miljømessig bærekraftig måte (Fiskeridepartementet, 2015). Den stående biomassen av Atlantisk laks til matproduksjon var 867 tusen tonn i desember 2021, noe som gir en enorm økning fra 162 tusen tonn i 1994. (Fiskeridirektoratet, 2022a). Stigende produksjon av Atlantisk laks har gitt økt forekomst av *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer 1837) (heretter kalt lakselus), som er en av de største utfordringene norsk oppdrett har i dag i tillegg til kompleks gjellesykdom og vintersår. En av de sentrale begrensningene for fortsatt vekst i oppdrettsnæringen er lakselus. Økonomisk utgjør lakselus en direkte merkostnad for lakseproduksjon på 4,25 NOK per kg produserte laks, eller totalt 5 milliarder NOK i 2016 (Iversen et al., 2017). Den globale kostnaden for overvåkning og behandling av lakselus ble i 2009 anslått å være 480 millioner USD (Costello, 2009a). Det er ingen tegn på at kostnadene med lakselus minker, heller det motsatte der konsekvensene av lakselus blir større med økende produksjon.

Parasittisme er en livsstrategi som har utviklet seg uavhengig mange ganger (Bush et al., 2001), og parasitter er per definisjon avhengig av ressurser fra en vert for å overleve og reprodusere. Lakselus er en viktig parasitt hos oppdrettslaks og vill laksefisk i det marine miljø (Costello, 2006). Lakselus er tilstedeværende på oppdrettslaks i et slikt antall at det gir store årlige negative økonomiske konsekvenser til næringen (Abolofia et al., 2017; Costello, 2009a). Vill laksefisk som forlater elvene om våren for å vandre ut i sjøen, vil også ha større mulighet for å bli infisert med lakselus (Sommerset et al., 2022). Grunnet store forekomster av parasitten ble det i 2017 innført et trafikklyssystem for lakseproduksjonen. Basert på strømforholdene langs hele kysten av Norge er kysten inndelt i 13 produksjonsområder for laks- og ørretoppdrett.

Forskrift om bekjempelse av lakselus i akvakulturanlegg legger rammer for produksjonskapasiteten av oppdrettet laksefisk gjennom «Trafikklyssystemet». Forskriften skal sikre bærekraftig produksjon med tanke på risiko for luseindusert dødelighet hos utvandrende vill laksesmolt (Fiskeridepartementet, 2013). For en tidsperiode på 2 år vil anlegg som har for høye lusetall havne i rød sone og må derfor redusere produksjonskapasiteten med 6%. Dersom anlegg har lave lusetall, kan det innebære en

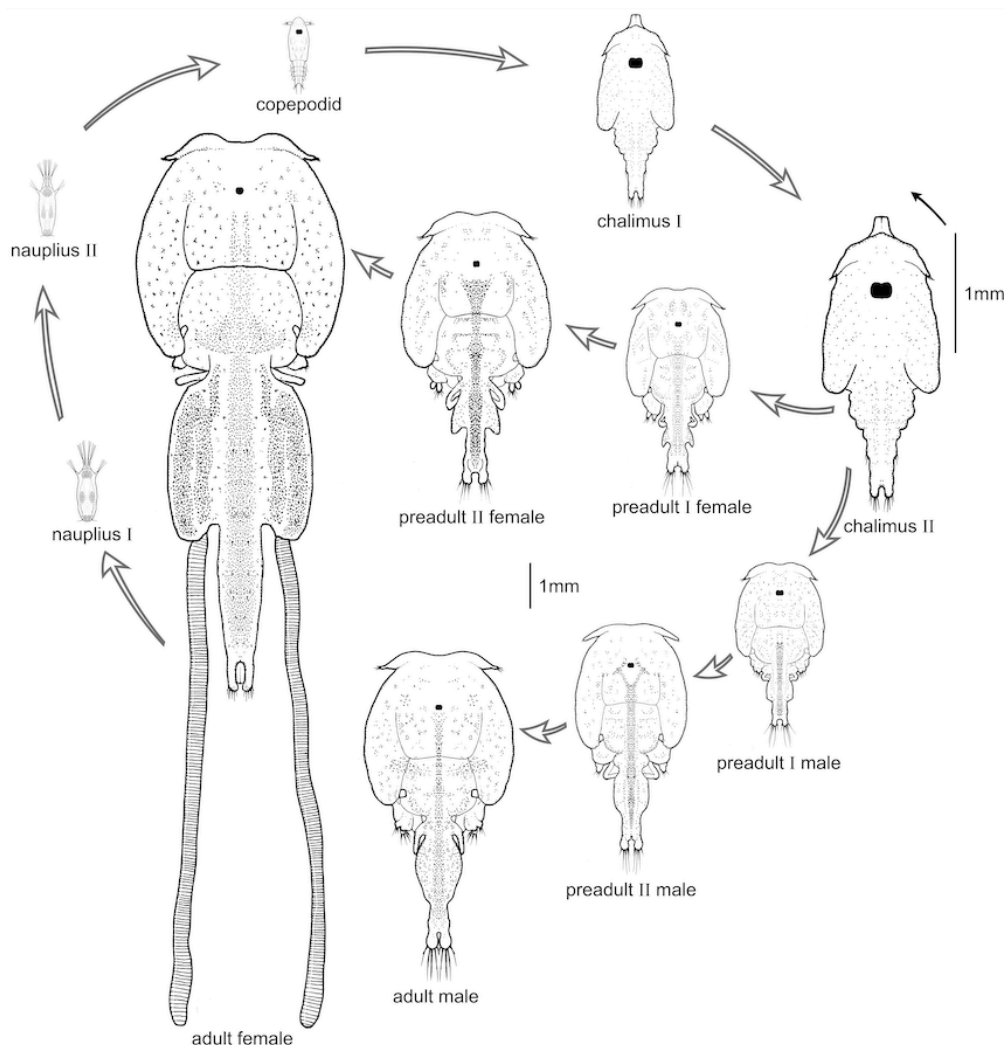
mulighet for å øke produksjonen av laks med 6%. Dette fører til at oppdretterne benytter mye tid og ressurser på lakselusbekjempelse i oppdrettsanleggene for å unngå at antall voksne hunnlus overskrider tillatte øvre grenser.

Pukkellaks (*Oncorhynchus gorbuscha*) regnes som en fremmed fiskeart som har sitt opphav fra Stillehavet. Tilstedeværelsen av pukkellaks i sjø og elver i Norge har hatt en betydelig økning siden 2017 og frem til 2021 (Berntsen et al., 2020). Fisken kommer inn mot Norges kyst for å gyte i elver, og er observert i store mengder i oddetallsår. Pukkellaks vil i store mengder kunne ha en negativ effekt på lokale laksefisk, vannkvalitet og biologisk mangfold (VKM et al., 2020).

Gyteklar pukkellaks har en reduksjon i den medfødte immunfunksjonen som gjør at den har mindre evne i sitt forsvar mot lakselus i forholdt til juvenil pukkellaks (Braden, Barker, et al., 2015).

1.1 Lakselus – generelt

Lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) er en ektoparasittisk copepod som tilhører familien Caligidae, som inneholder mange vanlige arter ektoparasitter på fisk. Lakselus er vanlig å finne på den nordlige halvkulen og kan infisere flere arter laksefisk, deriblant atlantisk laks, sjøørret, sjørøye og regnbueørret (*Onchorhynchus mykiss*) i Norske farvann. Den har en direkte livssyklus, noe som innebærer at den kun trenger én vertsart for å fullføre livssyklusen. Lakselus ble beskrevet i 1837 av Krøyer, og livssyklusen ble først beskrevet av Johnson & Albright (1991) men lakselusens livssyklus ble ikke fullstendig klarlagt før i 2013 (Hamre et al., 2013). Livssyklusen til lakselus inkluderer en planktonisk og en parasittisk fase og de ulike stadiene i livssyklusen er illustrert i figur 1.



Figur 1: Lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) gjennomgår åtte stadier etter klekking fra egg frem til voksen hunn- eller hannlus. Identifisering av kjønn er mulig etter chalimus II-stadie er nådd.

Illustrasjon: Sea Lice Research Centre (SLRC, 2020)

De to første stadiene er de to nauplius stadiene, disse lever fritt i vannmassene og tar til seg næring fra den medbrakte plommesekken fra egget. Det tredje stadiet er det en infeksjons kopepoditt som må infisere en vert innen plommesekken er oppbrukt og den dør av sult. Kopepodittenens vertsløkalisering er trolig en kompleks prosess, der flere stimuli og signaler spiller en viktig rolle (Mordue & Birkett, 2009). Kopepoditten er positivt fototaktisk og vil være nær overflaten der de naturlige vertene oftest vil oppholde seg. De vil oppholde seg nær overflaten på dagtid, og trekke ned i vannsøylen om natten (Heuch et al., 1995). Migrasjonsmønsteret til kopepoditten er i utgangspunktet tilpasset for å gi økt antall parasitt-vert-møter med vill laksefisk, og antakelig er oppdrettslaks mer utsatt for infektive kopepoditter. Kopepodittene reagerer også på redusert salinitet og vil være dypere i vannsøylen dersom det er brakkvann på toppen. Det er vist at kopepodittene reagerer på trykkbølgen fra en svømmende fisk som vil være en trigger for kopepoditten til å gjøre en rask svømmebevegelse mot trykkbølgen for å prøve å kunne feste seg til en mulig vert. Mekanosensoriske (Heuch et al., 2007) og olfaktoriske (Fields et al., 2007) signaler er antakelig artsspesifikke og benyttes for å finne rett kompatibel vert. Den mobile kopepoditten benytter særlig første antennen til å gjenkjenne rett kjemisk signal fra verten og ved hjelp av andre antenne og maxillipedsene til å gripe seg fast i vertens hud. Ytre faktorer som temperatur og mat er avgjørende for om det etter noe tid utvikles og sekreses et frontalfilament som lusen benytter til å feste seg gjennom epidermis som forankrer lusen til vertens basalmembran mens den har skallskifte og går over til neste stadium (Bron et al., 1991; Gonzalez-Alanis et al., 2001; Johnson & Albright, 1991). De neste to stadiene er chalimus I og II, og lusen er da fastsittende ved hjelp av frontalfilamentet som er sekret på verten. Lusen vil frem til den er voksen ha behov for å feste seg til fisken ved et nytt filament før neste skallskifte. Morfologisk vil det være mulig å skille kjønnene fra hverandre i det sene chalimus II-stadiet, der hunnene har lengre cephalothorax enn hannene (Eichner et al., 2015). Videre følger tre bevegelige stadier, preadult I og II og adult, der lusen kan bevege seg fritt på vertens overflate. Ved å variere undertrykket laget av cephalothorax kan den bevege seg effektivt rundt på verten sin overflate og vil sekreere frontalfilament ved skallskifte (Johnson & Albright, 1991).

Lakselusen blir kjønnsmoden i det adulte stadiet, og hunnene starter etter hvert produksjon av eggstrenger. Reproduktive hunner legger to eggstrenger med egg som under embryonal utvikling forblir festet til hunnen frem til de klekkes som nauplius I larver (Pike & Wadsworth, 1999). Hvert par av eggstrenger kan inneha fra noen få hundre til over 1000 egg

(Costello, 1993; Hamre et al., 2009). Like etter klekking vil det føres ut to nye befruktete eggstrenger. Hurtig reproduksjon sammen med høyt antall lus som klekkes per eggstrengpar og spesialiserte spredningsstadier (dvs naupli og kopepoditt), gir økt smittepress på eventuelle verter i ville laksebestander og hos oppdrettsfisk. Salinitet og temperatur er de viktigste miljøfaktorene som avgjør lakselusens utviklingshastighet (Ljungfeldt et al., 2017; Samsing et al., 2016). Etter befruktning kan hunnlus lage minst 11 par eggstrenger gitt en temperatur på 7,2°C (Heuch et al., 2000), og minst 13 eggstrenger ved 18°C (Hamre et al., 2019).

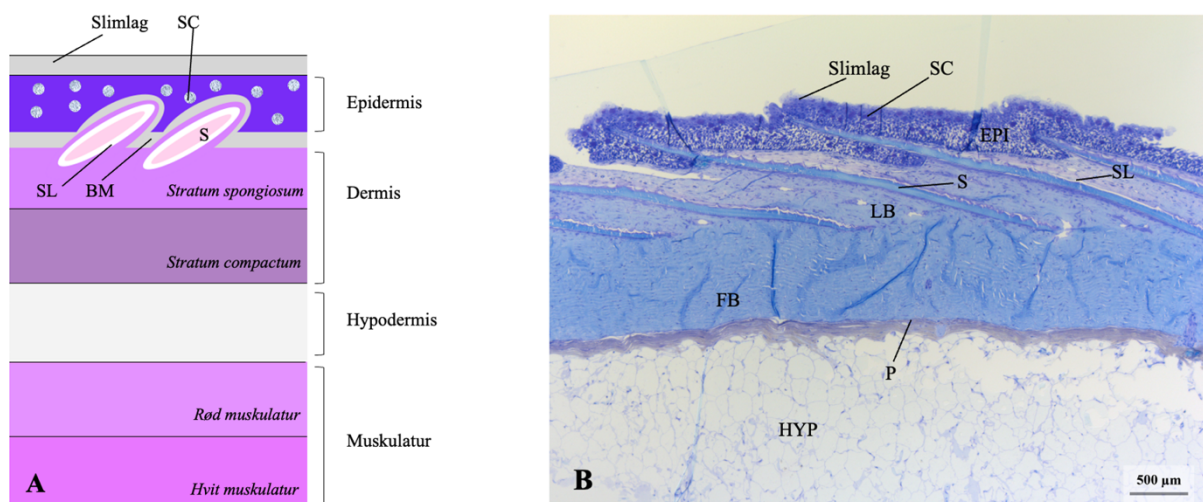
Utviklingen fra klekking til infeksøs kopepoditt tar ca. 30-50 døgngrader, og de forblir infektive i ca. 90-140 døgngrader (Samsing et al., 2016). Kopepoditter regnes for å være like smittsomme gjennom hele stadiet i følge biologisk hydrodynamiske koblete modeller (Myksvoll et al., 2018; Peacock et al., 2020). Temperatur viser seg også å påvirke kopepodittenes evne til å infisere verter (Hamre et al., 2013; Samsing et al., 2016; Tucker et al., 2000). De første stadiene etter lusen har infisert sin vert medfører kløe og irritasjon. Gitt optimale leveforhold kan lakselusen bli værende på verten lenge, og 455 dager er observert i lab (Hamre et al., 2009). Senere stadier kan innebære større skader for verten da lusen spiser av vertens blod, slim og hud, noe som gir kløende adferd og noe dypere sår (Dalvin et al., 2020; Finstad et al., 2000; Grimnes & Jakobsen, 1996; Heggland et al., 2020). Grimnes og Jakobsen (1996) fant et markant skifte i virulens når lakselus nådde pre-adult stadium og ble bevegelige.

1.2 Teleosters hud – sår og sårtilheling

Intakt hud er nødvendig for å bevare homeostase og gi beskyttelse mot patogener. Huden danner en flerlaget fysisk barriere som skiller det indre miljøet i fisken fra dens ytre omgivelser. Teleosters hudlag består av levende hudceller i alle tre hudlag, men vil ha varierende grad av tykkelse og struktur på ulike steder på fisken. Teleostens hud er delt inn i epidermis, dermis og hypodermis (figur 2). Det ytterste laget er epidermis, som hovedsakelig inneholder epitel- og slimceller. Dermis inneholder for det meste bindevev og er delt inn i stratum spongiosum som inneholder fiskeskjell (forutenom hodet og finner), og stratum compactum like nedenfor. Blodkar, pigmenter og nerveceller finnes også i dermis.

Hypodermis er det innerste laget før overgangen til muskelvev, og inneholder hovedsakelig fettvev. Huden er omgitt av et slimlag dannet av slimceller. Slimceller er å finne i hele epidermis, men har størst tetthet i dorsale og dorsolaterale regioner på fisken (det vil si rygg og ryggside) der det er størst behov for slim. Det er færrest slimceller å finne i den anteriore

regionen (hoderegionen) og den kaudale regionen (haleregionen) (Kryvi & Poppe, 2016; Pittman et al., 2013). Sammen med hudens kommensale mikrobiota utgjør slimlaget en essensiell del av laksens førstelinjeforsvar mot patogener og andre mikroorganismer. Slimlaget hjelper til med å fange opp, immobilisere og motvirke patogener og mikroorganismer i å etablere seg på huden (Esteban, 2012). Slimlaget fungerer også som beskyttelse mot mekaniske skader i tillegg til å bevare osmoregulatoriske funksjoner (Kryvi & Poppe, 2016). Det multifunksjonelle slimlaget som omgir huden inneholder glykoproteiner i form av muciner som vil etablere et glatt slimlag når de møter vann. Slimlaget varierer fra art til art, og kan endre seg blant annet ved infeksjoner. Slimlaget består også av lektiner, komplementproteiner, lysozymer, immunoglobuliner (Ig, antistoff), karbonsyreanhydrase, kalmodulin og C-reaktivt protein (Nigam et al., 2012). Det produseres antistoff som skilles ut fra B-celler og tre isotyper er kartlagt hos teleoster: IgM, IgT og IgD (Mashoof & Criscitiello, 2016; Murphy & Weaver, 2017). IgM deltar både i det medfødte og ervervede immunforsvaret, og er fiskens dominerende antistoff. Serum og slim innehar IgM der fire monomerer utgjør en tetramer. B-cellers overflate har også IgM, men her i form av monomerer. Slim og serum består også av IgT der dens funksjon er knyttet til immunresponser i slim hos laks. Hos ørret er IgD blitt identifisert, men ikke hos laks (Hordvik, 2015).



Figur 2: Hudens oppbygning hos laks. Hudlaget bestående av epidermis, dermis og hypodermis med underliggende skjelettmuskulatur. A) Skjematisk fremstilling av hudlagene. B) Histopatologisk snitt av hud hos pukkellaks (*Oncorhynchus gorboscha*). Epidermis (EPI) hos pukkellaks med slimceller (SC) og slimlag. Løst bindevev (LB) og fast bindevev (FB) som utgjør dermis. Dermis innehar skjell (S) som ligger i skjellommer (SL). Videre følger hypodermis (HYP) som ofte har pigmentlag (P) øverst.

Sårskader er et utbredt problem hos oppdrettsfisk og forårsakes blant annet av luseangrep, lusebehandling, notskifte, vær, strøm, forskjellige sykdommer, predatorer og transport (Takle et al., 2015). De mekaniske endringene i hudbarrieren som lus kan lage gir sår som kan føre til osmoregulatorisk svikt (Grimnes & Jakobsen, 1996). Sårskader kan også gi grobunn for sekundære infeksjoner og gi redusert fiskevelferd og flere av de ikke-medikamentelle behandlingsmetodene mot lakselus påfører ofte fisken større eller mindre sår. Sår som når ned i det underliggende muskellaget bruker lengre tid på å gro enn overflatesår (Richardson et al., 2013). Fiskearter og temperatur påvirker helingstiden for overfladiske og delvis dype sår, fra timer til dager (Anderson & Roberts, 1975; Richardson et al., 2016). Fiskens sårtilheling består av flere faser, som gjerne overlappes noe. Reepitelisering er første fase, etterfulgt av inflammasjon, dannelse av granulasjonsvev, sammentrekning av sår og omdannelse av granulasjonsvev (Richardson et al., 2013). Ved reepitalisering migrerer slimceller, epidermisceller og pigmentceller til såret og området rundt. Inflammasjonsprosessen med inflammatoriske celler, leukocytter, er også en del av den tidlige fasen. Leukocytter, i form av nøytrofile granulocytter, er de første som rekrutteres. Produksjonssted for de nøytrofile granulocyttene er hodenyre og milt, og via blodet når de først frem til det inflammatoriske området (Havixbeck & Barreda, 2015). Modne monocytter, i form av makrofager, deltar også ved inflammasjon. De fagocyterende makrofagene er, sammen med de nøytrofile, en del av fiskens medfødte immunforsvar (Murphy & Weaver, 2017). De dendritiske cellene er inkludert i det medfødte immunforsvaret. Ved å være antigenpresenterende celler knytter de det medfødte til det spesifikke immunforsvaret der B- og T-lymfocytter er involvert. B- og T-lymfocytter er antistoffproduserende leukocytter (Kryvi & Poppe, 2016; Murphy & Weaver, 2017). Tilstrømming av celler slutter når nye epidermisceller er dannet over såret. Slimceller vil senere ligge over de nye epitelcellene. Tidlig i sårhelingsfasen vil inflammasjonsfasen delvis overlappe med omdannelsen av vev (fibroblasttilstrømming, dannelse av granulasjonsvev og skjell). I den sene fasen vil dannelse av granulasjonsvev fremdeles pågå. Fiskens adaptive immunforsvar aktiveres i den sene fasen, og er sammen med det medfødte immunforsvaret essensiell i bekjempelsen av patogener i en sårtilhelingsprosess (Sveen et al., 2019).

1.3 Vert – parasitt interaksjon

I løpet av lakselusens livssyklus vil den gi ulike grader av sårskader hos verten (Dalvin et al., 2020). Lakselusen er i sine tidlige stadier i kontakt med verten via 2. antenne,

frontalfilamentet og maxillipedene for bevegelse, og den beiter på vertens hud med munntebulen (Bron et al., 1991). De små fastsittende stadiene til lakselus forårsaker begrenset hudskade (Jones et al., 1990), i forhold til de bevegelige preadulte og adulte som gjør mer skade (Bjorn & Finstad, 1998; Grimnes & Jakobsen, 1996). Når kopepodittene fester seg til fisken sees en moderat økning i inflammasjonsmarkører (Dalvin et al., 2020). I området som frontalfilamentet er festet sees få reaksjoner i huden til atlantisk laks, og få immunceller er i området der lusen er festet (Bron et al., 1991; S. C. Johnson & L. J. Albright, 1992; Jones et al., 1990).

Lus som har nådd mobile stadier kan bevege seg over et større areal av laksen og gir dermed større skade på verten (Grimnes & Jakobsen, 1996; Jónsdóttir et al., 1992). Preadulte og adulte lus er bevegelige stadier, og benytter marginalmembranen rundt cephalothorax til å danne vakuum mellom lus og vert og forflytte seg ved hjelp av 2. antennen, maxillipedsene og sekundære maxilla (Jónsdóttir et al., 1992). Lusen plasserer seg ofte bak rygg- fett- og gattfinnen da den trenger å nå lengre ned i lærhuden for næring (Dalvin et al., 2020; Jónsdóttir et al., 1992). Immunceller strømmer nå til området der lusen beiter og etter hvert vil dannes større hudskader. Det er observert at det til tross for økende tilstrømming av immunceller til affisert område hos regnbueørret, var både B- og T-cellemarkører redusert i mengde (Dalvin et al., 2020). Ulemper som lusen forårsaker inkluderer atferdsforstyrrelser, hudlesjoner, osmotisk ubalanse (Fjellidal et al., 2020), stress og økt mottakelighet for sekundære infeksjoner (Fjellidal et al., 2020; Takle et al., 2015). Økende kommersiell produksjon av atlantisk laks i merder har forverret problemene med lakselus. Det er også registrert en mer alvorlig patologi av lusens feste- og spiseatferd hos atlantisk laks enn hos flere av stillehavslaks artene (S. C. Johnson & L. J. Albright, 1992).

1.4 Behandling og kontroll av lakselus

Lakselus er en stor utfordring for det globale oppdrett av atlantisk laks, og det fører med seg store økonomiske tap grunnet behandlingskostnader i tillegg til negative effekt på vekstrater, verdi av ferdig produkt samt negative effekter på miljøet (Mennerat et al., 2012; Torrissen et al., 2013). Den økende mengden fisk i lakseoppdrett, gir økt vertstetthet for parasitten og økt parasittspredning. Oppdrettsanlegg er et viktig element for spredning av lakselus til vill laksefisk i Nord-Amerika og Europa (Costello, 2009b). Lakseoppdrettsanlegg er ofte stasjonert i områder der vill laksefisk migrerer, og vill laksesmolt er spesielt sårbar for lus. Grunnet de alvorlige konsekvensene lakselus kan ha for laksefisk, spesielt villfisk, er det laget

en egen forskrift som skal sørge for god lakseluskontroll (Fiskeridepartementet, 2013). Til enhver tid skal det være færre enn et gjennomsnitt på 0,5 hunnlus per fisk, og det skal iverksettes tiltak for å sikre at ikke grensen overskrides. Hvor ofte en må avluse for å holde seg innenfor grensen avhenger av flere faktorer slik som vannstrøm, temperatur, fiskens tilstand og effekten av avlusningsoperasjonene (Dempster et al., 2021). Det benyttes ulike metoder for å sikre et akseptabelt lusenivå, og dette kan være medikamentelt, ikke-medikamentelt og biologisk avlusning.

Medikamentell behandling har lenge vært den mest benyttede behandlingsmetoden.

Medikamentell behandling inndeles i badbehandling og oral behandling, avhengig av hvordan legemiddelet administreres. Badbehandling ved hjelp av presenning eller brønnbåt benyttes på legemidlene pyretroider, hydrogenperoksid, organofosfater og neonicotinider.

Kitinsyntesehemmere og avermektiner benyttes som orale legemidler og blir inkludert i fôret (Burridge et al., 2010). Kjemisk avlusning har tidligere blitt brukt med bra effekt, men har den senere tid hatt avtagende virkning grunnet økt resistens (Aaen et al., 2015). På bakgrunn av økt resistent, høye kostnader og miljøbelastninger har det vært behov for ikke-medikamentelle behandlingsmetoder mot lakselus.

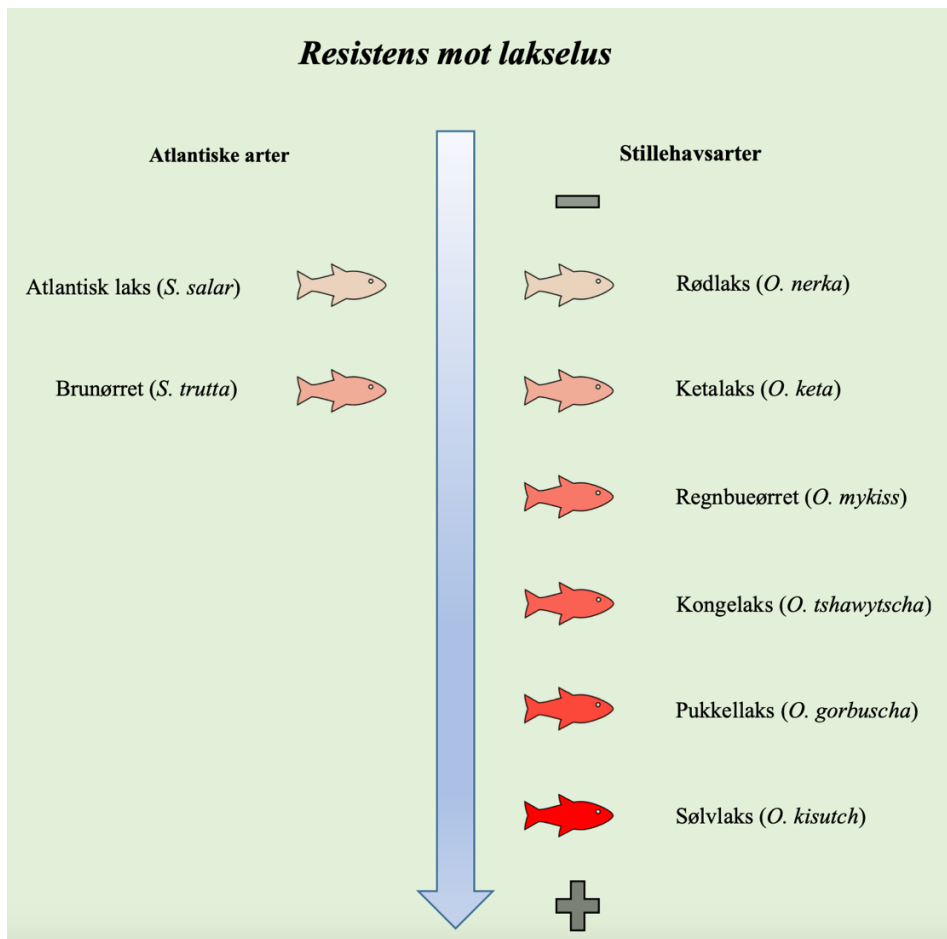
Mekanisk og termisk avlusning, rensefisk og luseskjørt er ulike tiltak som benyttes regelmessig i dag (Overton et al., 2019). To av de mekaniske behandlingene som brukes i dag er Hydrolicer og SkaMik, og Optilicer benyttes for termisk behandling. Ved mekanisk behandling trenges fiskene og blir pumpet inn i et lukket system der lusen spyles av og siden samles i et filter (Jevne & Reitan, 2019; Overton et al., 2019). SkaMik benytter til forskjell fra Hydrolicer også børsting i tillegg til spyling for å fjerne lusene fra laksen (SkaMik_AS, 2021). Den senere tid er det også brukt behandlinger der ferskvann og/eller varmtvann også blir benyttet, slik som Optilicer og Thermolicer. Optilicer utgjorde i 2021 55% av alle medikamentfrie avlusningsoperasjoner i Norge (Sommerset et al., 2022). Før behandling samles fisken på et mindre areal, noe som er stressende og innebærer ofte lave oksygenivå sammen med ytre hudskader. Ved termisk avlusning utsettes fisken for vanntemperaturer på 28-34°C i 20-30 sekunder, og temperatureffekten virker på lusen ved at de svimeslåes og løsner fra fisken (Holan et al., 2017). Til tross for mest mulig skånsom behandlingsmetode, vil behandlingsprosessen kunne gi stress og ytre hudskader. Hos allerede svekkede individer ser en økt dødelighet.

Rensefisk, slik som rognkjeks (*Cyclopterus lumpus*) og berggyllt (*Labrus bergylta*), benyttes som ikke-medikamentelle tiltak for å forsøke å holde lusebestanden nede da de kan spise lus av laksen. I 2021 ble det rapportert til fiskeridirektoratet om utsett av i overkant av 45 millioner rensefisk i merder med laks og regnbueørret (Fiskeridirektoratet, 2022b). Den siste tiden er det stilt spørsmål ved den etiske og miljømessige forsvarligheten ved bruk av rensefisk og effekten rensefisk har.

Vaksineutvikling (Swain et al., 2020), selektiv avl (Gharbi et al., 2015; Kolstad et al., 2005) og funksjonelt fôr (Holm et al., 2016) inngår også som en del av integrert lusebehandling. Nye tiltak og behandlingsmetoder til bruk i lakselusbekjempelse er et økende satsingsområde innen havbruksforskning. Landbasert oppdrett eller lukkede/semilukkede systemer er under utvikling. Ved å benytte lukkede systemer, hentes vannet fra dypereliggende lag slik at inntak av infektive lakselus kopepoditter reduseres (Nilsen et al., 2017).

1.5 Verter til lakselus

Lakselus er en vertsspesifikk parasitt og er å finne på laksefisk i familien Salmonidae. Det er beskrevet to underarter av lakselus, *L. Salmonis salmonis* fra Atlanterhavet og *L. Salmonis oncorhynchi* fra Stillehavet (Skern-Mauritzen et al., 2014). Langs Norskekysten vil lakselus parasittere atlantisk laks (*Salmo salar*), ørret (*Salmo trutta*) og røye (*Salvelinus alpinus*). Stillehavsunderarten finnes på de ulike artene med Stillehavslaks. Lakselus påvirker salmonider ulikt (figur 3); Ung pukcellaks (*Oncorhynchus gorbuscha*) og coho laks (*Oncorhynchus kisutch*) frastøter lus raskt, mens Atlantisk laks (*Salmo salar*) er høyst mottakelig for luseangrep (Braden et al., 2012; Braden, Koop, et al., 2015; Jones et al., 2008). Det er gjennomført ulike studier som viser tydelig resistens mot lakselus hos pukcellaks (Sutherland et al., 2014) og resistens hos coho-laks (*Oncorhynchus kisutch*) (Fast et al., 2002).



Figur 3: Illustrasjon av resistens mot lakselus hos forskjellige laksearter der skala viser fra mottakelige arter (+) til resistente arter (-). Atlantiske arter: Atlantisk laks (*Salmo salar*) og brunørret (*Salmo trutta*) og stillehavsarter: rødlaks (*Oncorhynchus nerka*), ketalaks (*Oncorhynchus keta*), regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*), kongelaks (*Oncorhynchus tshawytscha*), pukkellaks (*Oncorhynchus gorbuscha*) og søvlaks (*Oncorhynchus kisutch*). Illustrasjon er inspirert av (Braden et al., 2020)

1.5.1 Atlantisk laks

Atlantisk laks (*Salmo salar*) er en anadrom fiskeart som har sitt naturlige tilholdssted på øst- og vest-kysten av Nord-Atlanteren. Anadrome fiskearter gyter i ferskvann og har fôringsområde i saltvann, noe som innebærer langdistansevandring mellom elv og sjø. Laksen som stammer fra sør og midtre deler av Norge, oppholder seg trolig i det nordøstlige Atlanterhavet, og da spesielt i Norskehavet med bestander fra sørlige og sentrale deler av Europa (Holm et al., 2003). Atlantisk laks fra den nordlige delen av Norge lever i arktiske områder som omfatter det østlige Barentshavet, til områder ved Jan Mayen og nordover til Svalbard (Strøm et al., 2018).

Laksen gjennomgår omfattende fysiologiske transformasjoner slik at det kan bevege seg mellom ferskvann og saltvann. Migrasjon fra elven og ut i åpent hav sees på som en strategi der ulike livsstadier drar fordel av habitater som optimerer kondisjon. Atlantisk laks blir klekket om våren i elver med høy vannføring. I starten er plommesekken eneste næring til lakseyngelen, senere spiser den insekter. Ungfisk av laks lever 1-5 år i elven før de når smoltstadiet og er klar for utvandring i sjøen for å ta til seg næring og vokse. Fisken lever de første årene som parr i elven, til den starter smoltifiseringsprosessen og vandring ut i havet som smolt. Laksen vender tilbake til sin fødeelv etter 1-4 år i sjøen for å gyte (Forseth et al., 2017).

På verdensbasis foregår det i dag oppdrett av en rekke ulike arter, og Norge er det landet som produserer mest laks på verdensbasis. Ofte er oppdrettsanlegg for laks å finne langs naturlige vandringsveier for villaks, og dette kan legge ytterligere smittepress på utvandrende smolt (Krkošek et al., 2013). Lakseoppdrett er som oftest inndelt i to faser; utvikling fra rogn til smolt i lukkede system i ferskvann med påfølgende vekstfase i merder i sjø. De fleste merdene i sjø har ingen ytre barriere mot omgivelsene, og dette muliggjør utveksling av patogen begge veier. Villfisk og oppdrettsfisk på nabolokaliteter kan smitte hverandre grunnet korte avstander mellom lokaliteter eller havstrømmer, i tillegg kan båter være bærer av patogen mellom lokaliteter.

Laksebestanden har gjennomgått en langvarig tilbakegang i tilbakevendende laks fra havet, og er mer enn halvert de siste 39 årene (Thorstad et al., 2022). I løpet av laksens anadrome livssyklus, vil den møte på en rekke ulike trusselfaktorer slik som kraftproduksjon, lakselus, sur nedbør, rømt oppdrettslaks og pukcellaks (Thorstad et al., 2022). Ved gunstige levevilkår, kan lus bli værende på vertsfisken over lange perioder (Hamre et al., 2009). Studier som er gjort gir meget varierende bevis for tap av lakselus etter infeksjon; alt i fra 30% til nesten 100% tap frem til adult stadiet (Bjorn & Finstad, 1998; Bui et al., 2020; Hamre et al., 2009; Hamre & Nilsen, 2011). Flere ulike faktorer er undersøkt med tanke på tap av lus fra verten (Wagner et al., 2008). Dette kan blant annet være søk etter partner i adulte stadier (Stephenson, 2012), naturlig død, skallskifte eller flere faktorer samtidig (Bui et al., 2020). Enkelte stillehavslaks viser resistens mot lakselus, men atlantisk laks og regnbueørret viktig oppdrettsfisk innen akvakultur er mottakelig (Dalvin et al., 2020; Jones et al., 2007; Sutherland et al., 2014). De mottakelige artene vil en kunne se en begrenset immunrespons,

og lusen vil infisere verten (Holm et al., 2015; Øvergård et al., 2018). Nylig forskningsstudie av atlanisk laks infisert med lakselus har vist klar forskjell i aktivisering av pro-inflammatoriske gener mellom hud, finner og skjell (Øvergård et al., 2023). Der ble det påvist at hud, skjell og finneprøver av upåvirkede steder hos infisert fisk viste ulike immungener tilsvarende som av uinfisert fisk. Videre ble det dokumentert signifikant økning av IL1 β , IL8, MMP13, NCCRP1 og IL4/14A transkripsjoner ved lusefestet sett i forhold til ubehandlet fisk og hud- og skjellprøver fra upåvirkede steder. Der som lusen var festet på finner, viste analyser tilsvarende eller reduserte transkripsjonsnivåer sett i forhold til prøver som ble tatt fra uaffiserte områder og ubehandlet fisk.

1.5.2 Pukkel laks

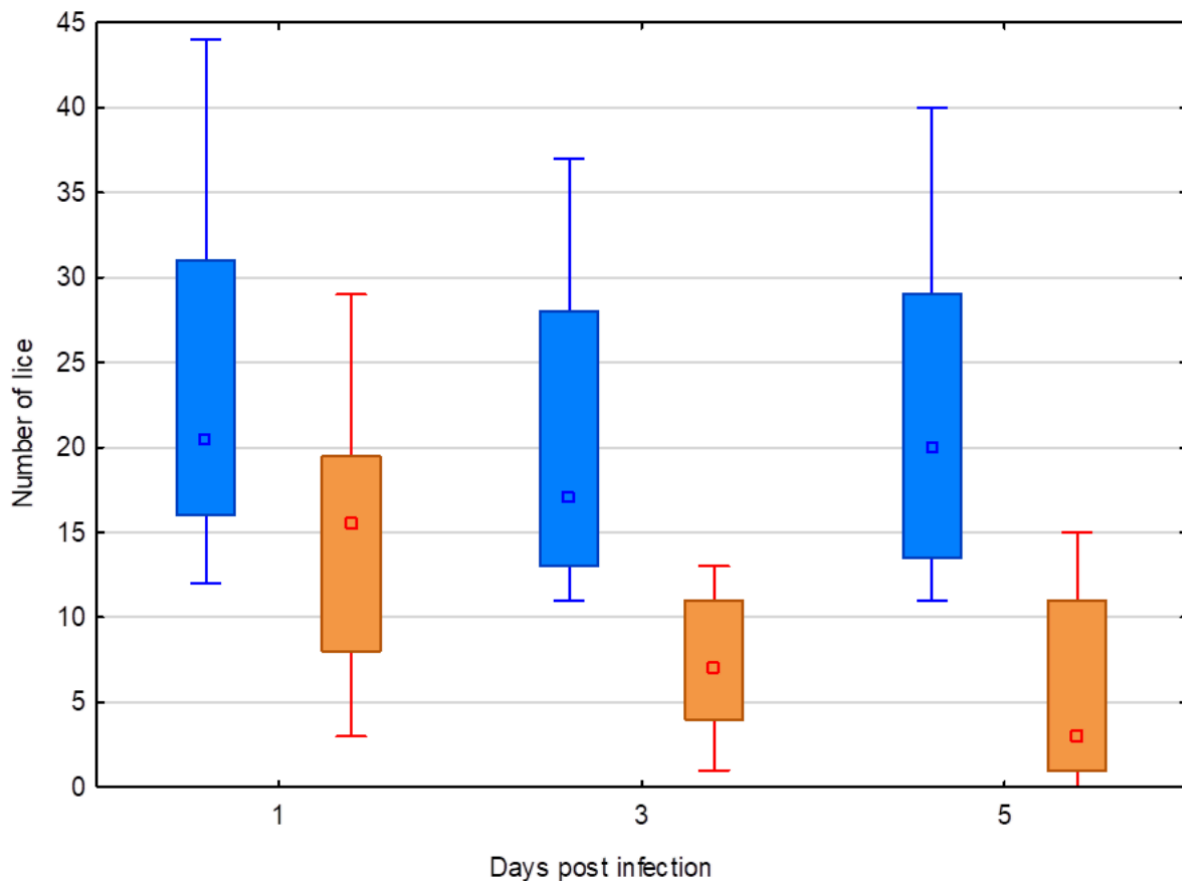
Pukkellaks (*Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum 1792)) tilhører slekten *Oncorhynchus* og er den mest tallrike av Stillehavslaksene, men også den minste i størrelse. Naturlig utbredelsesområde for fisken er de nordlige delene av Stillehavet og fisken har gyteområder på både vest- og østsiden (Gjelland & Sandlund, 2012; Niemelä et al., 2016). Ønsket om å etablere en fiskeriressurs førte til at den ble satt ut i elver Kvitsjøenområdet i Nordvest-Russland, og dette har ført til selvopprettholdende bestander (Sandlund et al., 2019). Grunnet sekundær spredning er det de senere år pukkellaks som regelmessig gyter i elver like ved den russiske grensen i Nord-Norge (Berntsen et al., 2020; Niemelä et al., 2016; Sandlund et al., 2019). Forekomsten av pukkellaks økte kraftig fra 2017 (Berntsen et al., 2020; Sandlund et al., 2019), men fisken ble først inkludert i offisiell fangststatistikk i 2019. Troms og Finnmark og Nordland er fylkene med høyest fangst av pukkellaks i sjø og elv (Berntsen et al., 2020). Pukkellaksen er registrert videre langs hele kysten av Norge, med lavest forekomst på Østlandet. Det har etablerte seg partall- og oddetallsbestander (Heard, 1991) grunnet generasjonstid på 2 år. Pukkellaksbestanden med opphav fra befruktete egg fra oddetallsår vil returnere til elven for å gyte i oddetallsår, mens partallsbestanden vil vende tilbake til elven i partallsår for å gyte. Hvilke sykdommer pukkellaks har med seg når den kommer inn til kysten og de norske elvene, er det lite kunnskap om. Da det kommer et stort antall laks inn til kysten, er det en fare for at fisken kan være med å spre sykdommer (Thorstad et al., 2022).

Pukkellaksen er en anadrom art med en 2-årig livssyklus og er arten som har den mest spesialiserte livssyklusen i slekten. Pukkellaks beiter på åpent hav i 1 ½ år (Niemelä et al., 2016). Tilbakevendende pukkellaks fra havet returnerer til elvene for å gyte i tidsrommet juni – september (Heard, 1991; Sandlund et al., 2019), og dør innen den atlantiske laksen

begynner sin gyting fra starten av oktober (Niemelä et al., 2016). Voksen pukkellaks inntar ikke føde i ferskvann, og ansees derfor ikke som konkurrent med tanke på næring eller som predator elvens stedeagne arter av ungfisk (Gjelland & Sandlund, 2012). Klekking skjer fra desember til februar (Bonar et al., 1989) og måler da en lengde nær 2 cm og ernærer seg av medfølgende plommesekk fra egget (Niemelä et al., 2016). Ulike faktorer slik som temperaturen i elven er avgjørende for klekketiden, og i elver med høyere temperatur skjer klekking raskere (Rasmussen, 1961). Yngel kommer etter kort tid opp av grusen i elven når den har brukt opp plommesekken, og forlater elven kort tid etter klekking (Heard, 1991; Quinn, 2005). Smoltifiseringen settes i gang allerede når yngelen kommer opp av grusen. De morfologiske endringene som skjer med fisken sees som en mørkere farge på ryggen når parmerkene forsvinner, sølvblanke sider og hvit buk (Heard, 1991). Fysiologiske endringer i fisken muliggjør et levesett i sjøvann. Fisken som migrerer ned elven via elvemunninger til kystvannet, er saltvannstolerante ofte kun dager eller uker etter klekking (Heard, 1991; Quinn, 2005). Estuarier og kystvann kan være oppholdssted for yngelen i inntil noen måneder før den forflytter seg ut i sjøen (Heard, 1991; Moore et al., 2016). Juvenile pukkellaks som kommer ut i sjøen utsettes for en rekke ulike patogener i tillegg til lakselus (Saksida et al., 2012). Det er registrert en dødelighet på 77% i løpet av de første 40 dagene laksen er i sjøen (Heard, 1991). Pukkellaksen vokser fort etter den har kommet i havet, og vil allerede ved en vekt på 0,7g overkomme infestasjoner med lakselus ved utvikling av akutfase- og inflammatoriske responser (Jones et al., 2008; Sutherland et al., 2014). Forsvarsresponsene sammenfaller med modning av huden med skjellutvikling og avvisning av lus. Ved sammenligning av juvenile og kjønnsmodne pukkellaks, har juvenile høyere tetthet av slimceller ved smittetidspunkt (Braden, Barker, et al., 2015). Pukkellaks som forlater og vender tilbake til elvene har gode muligheter for å passere oppdrettsanlegg. Dette kan resultere i smitte mellom pukkellaks og oppdrettsfisk av ulike agens. Pukkellaksyngel kan ha med seg smitte fra elven og gyteklar pukkellaks kan være bærer av ulike agens når den vender tilbake til elven. Kjønnsmodne pukkellaks har ofte kraftige naturlige infeksjoner med lakselus når de blir undersøkt i åpent hav eller kystvann (Beamish et al., 2005). Etter gyting overlever fisken kun i noen uker før de dør.

1.6 Målsetting

Mer kunnskap om lakselusens biologi og reproduktive potensial er av stor interesse for å kunne bidra til utvikling av metoder som kan forebygge og kontrollere lusen, da den er økonomisk og tidkrevende utfordring for oppdrettsnæringen og har negative effekt på de ville laksefiskene i Norge. De ulike artene med stillehavslaks viser stor forskjell i mottakelighet av lakselus, noe som blant annet er basert på resultater fra smitteforsøk med stillehavsunderarten av lakselus (*L. salmonis oncorhynchi*). I disse studiene ser man at søvlaks og pukkellaks viser stor grad av resistens og svært få kopepoditter overlever (S. Johnson & L. Albright, 1992; Jones et al., 2007). Smitteforsøk utført ved SLRC (Nilsen et al. upublisert, se figur 4) viste at F1 avkom fra villfanget pukkellaks i stor grad var resistent mot lakselusinfeksjon (*L. salmonis salmonis*) da kopepodittene i all hovedsak forsvant fra verten før de ble chalimus I. Tilstanden til disse kopepodittene er ukjent og man vet ikke om de er levende eller døde etter en periode på pukkellaks



Figur 4: Lusetall etter smitte med kopepoditter av lakselus (*L. salmonis salmonis*) på atlantisk laks (blå) og pukkellaks (oransje). (Nilsen et al. upublisert)

Hovedmålet med studiet er å undersøke om kopepoditter av lakselus (*L. salmonis salmonis*) som har infisert og vært festet på pukkellaks kan smitte og etablere seg på atlantisk laks eller om de er døde eller svekket av pukkellaksens vertsrespons, og derfor ikke vil kunne smitte atlantisk laks. I tillegg ble det tatt histologiske prøver for å identifisere en mulig vertsrespons hos pukkellaks som følge av infeksjon med lakselus.

Hypoteser:

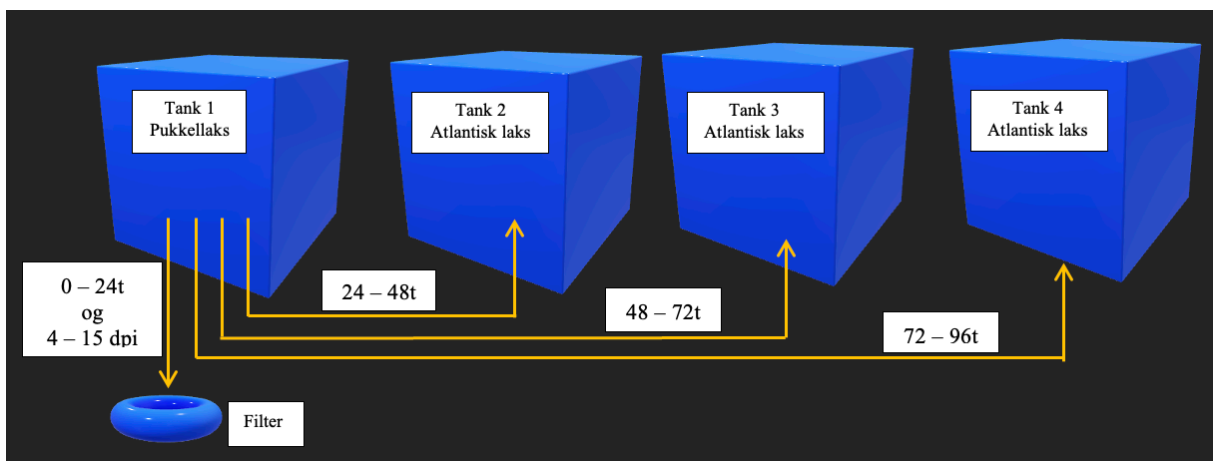
- Ha0 Lakseluskopepoditter kan ikke smitte laks etter at de først har festet seg på pukkellaks.
- Ha1 Lakseluskopepoditter kan smitte Atlantisk laks etter at de først har vært festet til pukkellaks.
- Hb0 Det er ingen synlig (basert på histologi) vertsrespons hos pukkellaks mot lakseluskopepoditter.
- Hb1 Det er en synlig vertsrespons hos pukkellaks mot lakseluskopepoditter.

2 Material og metode

Alle eksperimenter ble utført ved SLRC på LiceLab som er en godkjent GMO-lab ved Universitetet i Bergen (lokalisert i Bergen, Norge), som har godkjenning fra Mattilsynet til å gjennomføre slike smittforsøk med lakselus. Vevsprøver til histologiske prøver ble tatt ved Universitetets disseksjons lab og ble videre behandlet og undersøkt ved formalin lab og histologisk lab.

2.1 Forsøksoppsett og tidslinje

Ekspertimentelt oppsett (figur 5) består av 4 kar (tank 1, tank 2, tank 3 og tank 4) med tilhørende avløpsrør og filter som ble benyttet til ulike tidspunkt som beskrevet under. I hovedforsøket (se under) inneholdt tank 1 29 pukkellaks og ble infisert med 5600 kopepoditter av *Lepeophtheirus salmonis*. Vekselsvis ble det brukt to filter (maskestørrelse 125 og 150 μm) som mottok avløpsvann fra tank 1 0-24 timer og 4-15 dpi etter smitte. Totalt 36 atlantiske laks ble likt fordelt i tre andre kar (tank 2, tank 3 og tank 4) og hadde tilsvarende størrelse som tank 1. Avløpsvann fra tank 1 ble overført til de tre andre karene til ulike tidspunkt etter smitte med 5600 kopepoditter: tank 2 fra 24-48t etter smitte, tank 3 fra 48-72t etter smitte og tank 4 fra 72-96t etter smitte.



Figur 5: Sjematisk oversikt over forsøksoppsettet med de ulike tankene og hvordan avløpsvannet fra tank 1 ble fordelt igjennom forsøket; fra 0 – 15 dpi til filter eller tank 2, tank 3 eller tank 4. Tank 1 inneholder pukkellaks og tank 2-4 inneholder atlantisk laks.

2.2 Smitteforsøk

2.2.1 Innledende forsøk

I forkant av hovedforsøket ble det utført et innledende forsøk for å sikre at kopepodittene overlevde transporten gjennom avløpsrøret og at lusen var infektive og i stand til å feste seg til laksen etter transport gjennom røret. Det ble tilsatt 720 kopepoditter til tank 1, som på det tidspunktet var uten fisk. Avløpsvannet fra tank 1 ble videreført til tank 4 som inneholdt 12 Atlantisk laks. Fisken ble undersøkt etter 22 dpi (når lusen var chalimus II og lette å se) for lus på kropp og finner i tillegg til vekt og lengde.

2.2.2 Hovedforsøk

Smittemetoden som er utviklet av SLRC ved BIO vil i lab typisk føre til at 30-50% av kopepodittene vil infisere og feste seg til laksen (Hamre et al., 2009), som er den vanlige vertsfisken. Da utgangspunktet for dette smitteforsøket var å smitte pukkellaks som ikke var kjønnsmoden, og dermed ikke egnet vert for lakselus (Jones et al., 2008), ble det avgjort å smitte med en rikelig mengde lakselus per fisk. 29 pukkellaks ble holdt i tank 1 og 36 atlantisk laks ble likt fordelt på tre kar (tank 2 – 4). Alle karene hadde et volum på 500L med et vindu på den ene siden til å observere fisken.

Infeksjonen av pukkellaks ble utført etter standard prosedyre som beskrevet her.

Lakselusinkubatorenes tetthet av kopepoditter ble estimert ved å bruke en pipette (åpen i begge ender) som ble senket ned i et litermål som inneholdt sjøvann og kopepoditter. Ved hjelp av tommelen ble den øvre åpningen lukket og til sammen 30ml sjøvann med kopepoditter overført til en 100ml målesylinder. Sjøvannet med kopepoditter ble tilsatt 70% saltholdig alkohol for lettere å kunne telle kopepodittene. Kopepodittene og sjøvannet ble så overført et dyreplanktontellkammer og kopepodittene ble telt ved hjelp av mikroskop.

Vannstanden i tank 1 ble midlertidig senket i en time og det ble tilført 5600 kopepoditter (193 kopepoditter per fisk) som var ≥ 3 dager gamle (etter skallskifte fra nauplius II), for å infisere 29 pukkellaks i tank 1. Tilsvarende metode ble benyttet ved det innledende forsøk (uten fisk) og et ekstra smitteforsøk, men med en annen smittedose.

Pukkellaks fra tank 1 ble undersøkt ved 9 ulike tidspunkt etter smitte (4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 17 og 18 dpi) for å tallfeste lus på fisken som skal sammenlignes med funn i filter og i tanken

med atlantisk laks. På grunn av arbeidsmengden ble atlantisk laks undersøkt på tre ulike dager; tank 2 ved 18 dpi, tank 3 ved 19 dpi og tank 4 ved 20 dpi.

2.2.3 Ekstra smitteforsøk

Et ekstra smitteforsøk ble i etterkant av hovedforsøket utført for å få sammenligningsgrunnlag for histologiske prøver som ble tatt av pukkellaks. 1200 kopepoditter som var 3 dager eller eldre ble benyttet til å smitte 8 Atlantisk laks i tank 1 etter tilsvarende metode som ved hovedforsøket. Det ble gjort uttak av fisk for histologiske prøver ved 4 og 6 dpi.

2.3 Modellarter

2.3.1 Fisk

I forsøkene ble det benyttet pukkellaks (*Oncorhynchus gorbuscha*) og atlantisk laks (*Salmo salar*). Pukkellaksen som ble benyttet i eksperimentet ble kommer fra Daleelva i Vaksdal der to gytegroper ble gravd opp og øyerogn fraktet til SLRC, UiB og klekket og alet opp og benyttet til forsøk. Det var totalt 29 individer i tank 1 og fisken hadde ikke vært i kontakt med lus før forsøk. Pukkellaksen var ikke kjønnsmoden. Atlantisk laks som ble brukt i eksperimentene ble donert fra ILAB. I det innledende forsøket var det 12 fisk i tank 4. Under hovedforsøket var det totalt 36 individer likt fordelt mellom tank 2-4. Den atlantiske laksen hadde ikke vært i kontakt med lus før forsøk. I det ekstra smitteforsøket ble det smittet 8 fisk i tank 1. Fiskene var ikke kjønnsmoden. Fisken hadde 12:12 lysregime. All fisk ble føret en gang daglig med et kommersielt fôr i henholdt til norske dyrevelferdsforskrifter.

2.3.2 Lakselus

Lakselus kopepoditter (*L. salmonis salmonis*) som ble brukt til å infisere 29 pukkellaks med, kom fra eggstrenger fra kjønnsmodne hunnlus fra LsGulen stammen. Lus fra samme stamme ble også benyttet i de andre forsøkene.

2.4 Oppfølging av lakselus og forsøksfisk

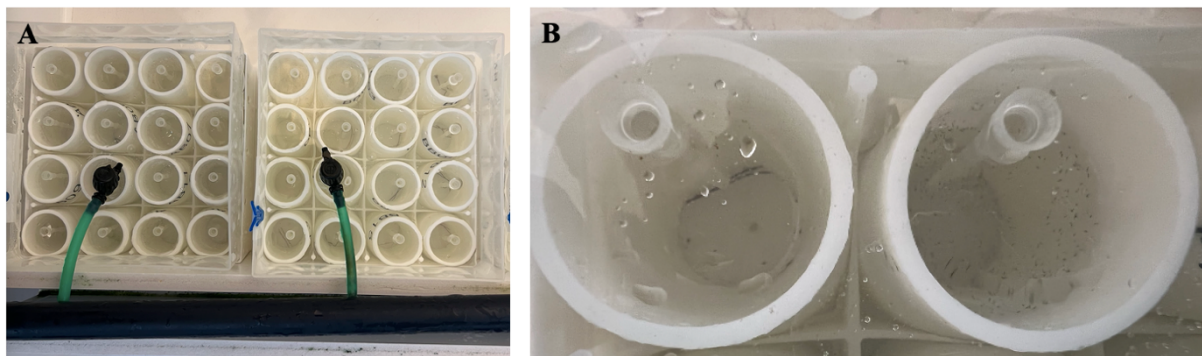
2.4.1 Vannkvalitet

Sjøvann til inkubasjon av lakselus og kar (tank 1-4) for fisk var filtrert sjøvann hentet fra havnen. Vanntemperatur og salinitet ble målt daglig og var gjennomsnittlig 8,9°C og holdt en salinitet på 34.00 ppt. Alle fire fiskekar rommet et volum på 500L. Vanntilførsel til tank 1 var 12 l/min, og i tank 2-4 ca. 7 l/min. Filteret som filtrerte sjøvannet fra havnen sluttet å virke i

en periode under hovedforsøket, og det var nødvendig å erstatte det med et nytt filter. Hele første formiddagen og ettermiddagen av dag en (0 dpi) ble derfor ikke sjøvannet fra byfjorden filtrert.

2.4.2 Kultivering av lakselus

Eggstrengpar ble tatt fra voksne gravide lakselus (*L. salmonis salmonis*) hunner som var festet til atlantisk laks og holdt i vanntemperatur og saltholdighet nær forholdene i inkubatorene. Lakselus ble klekket ut og inkubert i små gjennomstrømningsinkubatorer (figur 6) (Hamre et al., 2009), og observasjoner av inkubatorer ble gjort to ganger daglig i inkubasjonsperioden og naupliusstadiene. Hver brønn inneholdt eggstrenger fra en voksen, gravid hunn og ble gitt kontinuerlig sjøvann gjennom et tynt plastrør på toppen. Hver brønn var forseglet med et 150 μm filter i bunnen for å forhindre rømming av lakselus og samtidig la avløpsvannet renne ut av brønnen. Pigmenterte eggstrenger er mer utviklet enn de gjennomsiktige eggstrengene. Ved å velge eggstrenger med lik farge, kan klekking oppnås på et ganske synkront tidspunkt. Kun eggstrenger fra hunn med pigmenterte egg ble valgt til forsøket.



Figur 6: Gjennomstrømningsinkubatorer for lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*). A) To klekkebrakker med klekkeinkubatorer med kontinuerlig vanntilførsel via grønn slange. Vanntilførsel til hver enkelt inkubator via en pipettespiss i sentrum av inkubator. B) To inkubatorer med to eggstrenger (venstre) og nylig klekket *L. salmonis* nauplii larver (høyre).

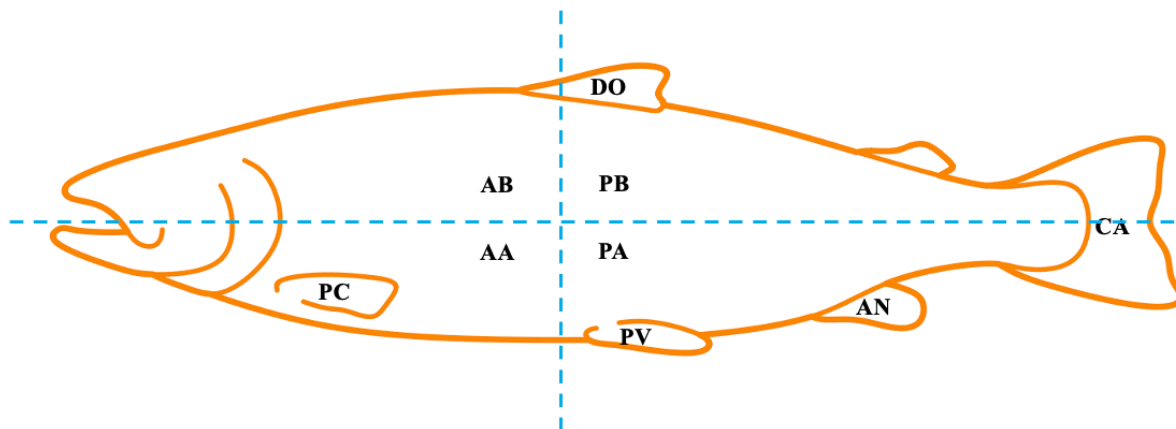
2.4.3 Bedøvelse og håndtering av fisk

All fisk ble bedøvet før håndtering og transport for å hindre stress, rømming og lettere oppsamling av lus. Anestesi ble gjort ved å bruke en 20L bøtte fylt med 10L vann fra den originale fisketanken og totalt 1,2g trikainmesylat eller MS-222 (Finquel vet.) blandet i vannet. Fisken er fullstendig bedøvet etter ca. 1 minutt. Før man undersøkte fisken for lus, ble

all fisk drept av et kraftig slag mot hodet med en trepinne. All fisk som ble samlet en dag hadde det samme bedøvelsesvannet.

2.4.4 Uttak av fisk og lus

Hovedforsøket hadde en varighet på 25 dager fra smittetidspunkt i tank 1 til siste uttak av fisk i tank 4 (tabell 1). Uttak av pukkellaks fra tank 1 ble gjort ved ni ulike tidspunkt (4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 17 og 18 dpi). De syv første uttakene bestod av 3 fisk og de to siste av 4 fisk. Kar tank 2-4 som mottok avløpsvann fra tank 1, ble gjort uttak fra på tre ulike dager; tank 2 ved 18 dpi, tank 3 ved 19 dpi og tank 4 ved 20 dpi. Vekt og lengde ble målt etter avlivning før evt. histologiske prøver ble tatt. Så fulgte en systematisk undersøkelse av lus på finner og hud (figur 7) der fiskens kroppsoverflate ble inndelt i 9 områder; *dorsalfinne (DO)*, *pektoralfinner (PC)*, *bukfinner (PL)*, *analfinne (AN)*, *caudalfinne (CA)*, *anterior back (AB)*, *posterior back (PB)*, *anterior abdomen (AA)* og *posterior abdomen (PA)*. Finner ble klippet av og undersøkt med Olympus Stereo Microscope SZX12 for telling av lus. Eventuelle bilder av lakselus ble Canon EOS R kamera med Olympus DF PLFL 1,6X PF stereo mikroskop objektivlinse ved hjelp av Olympus Stereo Microscope SZX12.



Figur 7: Laksens kroppsoverflate ble inndelt i 9 områder; *dorsalfinne (DO)*, *pektoralfinner (PC)*, *bukfinner (PL)*, *analfinne (AN)*, *caudalfinne (CA)*, *anterior back (AB)*, *posterior back (PB)*, *anterior abdomen (AA)* og *posterior abdomen (PA)*. Nedlastet fra: <https://www.dimensions.com/element/atlantic-salmon>

Tabell 1: Tidslinje for infeksjonsforsøk. Viser oversikt over avløpsvann fra tank 1 til tank 2-4, aktivt filter og sampling av fisk for forsøket fra tank 1-4.

		04.11.2022 til 28.11.2022																											
		Uke 1							Uke 2							Uke 3													
		nov							nov							nov													
		fre	lør	søn	man	tir	ons	tor	fre	lør	søn	man	tir	ons	tor	fre	lør	søn	man	tir	ons	tor	fre	lør	søn	man	tir	ons	tor
dpi (Dager etter smitte)		4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	24						
Avløpsvann fra tank 1	Filter																												
	Tank 1 til tank 2																												
	Tank 1 til tank 3																												
	Tank 1 til tank 4																												
Uttak tank 1 (# fisk)							3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4						
Uttak tank 2 (# fisk)																											12		
Uttak tank 3 (# fisk)																												12	
Uttak tank 4 (# fisk)																													12

2.5 Histologiske analyser

Finne- og hudprøver fra pukkellaks og Atlantisk laks, med og uten lakselus, ble fiksert på Karnovsky i minst 24 timer for histologiske undersøkelser (appendiks E). Før innstøpning i Technovit (Technovit 7100, Heraeus Kulzer GmbH) i henhold til leverandørens anvisninger ble finner med lakselus vasket i PBS (pH 7,2), dehydrert i en gradert etanolserie (50%, 70% og 96%), og preinfiltrert i Technovit/etanol (1:1) i 4 timer. Innstøpning ble gjort med 15 deler infiltrerende løsning og 1 del Hardener II. Seksjonering (0,20 μm) av finner med lus festet utført ved bruk av Leica RM 21654 mikrotom i serieprøver hvor produsentens protokoll for bruk av maskin ble fulgt. Serieprøvene ble overført til objektglass og farget med toluidinblått (1% i 1% natriumborat) i 1 minutt og like etter nedsenket i en beholder med rennende kaldt vann i ett minutt før tørking over natten. De fargede seksjonene ble dekket med objektglass ved hjelp av Mountex (Histolab Products). Snittene ble så vurdert ved bruk av Zeiss Axio Scope A1 Microscope og tatt bilde av med Axiocam 105 color.

2.6 Statistiske analyser

Funn av lus ble, stadier og foretrukne plassering ble undersøkt og sammenlignet på flere ulike måter. Den prosentvise forekomsten av lusens foretrukne plassering ble utregnet i prosent og fremstilt på figurer. Mean abundance ble utregnet for lus festet på både pukkellaks og atlantisk laks. One-way Anova tester ble utført i Excel for å undersøke om det var signifikante forskjeller i antall lus basert på funnsted på fisk og fiskekar.

To enkle lineære modeller ble konstruert i Excel for å undersøke gjenværende lakselus i tank 1 og tap av lakselus per fisk per time i tank 1. Til den ene modellen ble det lagt til R^2 for å vise hvor godt dataene passer til regresjonsmodellen. Gjenværende lakselus i tank 1 er vist i figur 15. X-aksen viser dpi fra 0 til 16. Y-aksen viser gjenværende lakselus i tank 1, og baserer seg på funn av lakselus i filter (blå punkter baserer seg på funn i filteret på avløpsvannet fra tank 1 fra 0-24 timer etter smitte med lakselus i tank 1 og 4-16 dpi). Røde punkter er estimert ut ifra når tank 2-4 mottok avløpsvann og filteret ikke var aktivt. I tank 2-4 er det lagt til grunn en forventet smittesuksess på 37,6% (som utregnet ved pilotforsøk) og mean abundance utregnet for funn av lakselus i tank 2-4.

Antall lakselus som hver fisk taper hver time fra 0 til 16 dpi er vist i figur 16. X-aksen viser dpi fra 0 til 16. Y-aksen viser lakselustap per fisk per time, og baserer seg på funn av lakselus i filter (blå punkter er funn av lakselus i filteret som ble benyttet på avløpsvannet til tank 1) og

der de røde punktene er estimert tap fra pukkellaks når tank 2-4 mottok avløpsvann (der filteret ikke var aktivt). I tank 2-4 er det lagt til grunn en forventet smittesuksess på 37,6% (som utregnet ved pilotforsøk) og mean abundance utregnet for funn av lakselus i tank 2-4. Det er videre estimert et kopepodittap dersom forventet smittesuksess på 37,6%.

3 Resultater

Et pilotforsøk for å teste smittesuksessen i det etablerte karsystemet ble gjennomført (se figur 5 og 8). Målet med dette pilotforsøket var å undersøke om lakseluskoepodittene overlever transport gjennom avløpsrørene og om lusene er i stand til å feste seg til laksen etter transport gjennom rørene, og hvor de festet på fisken og stadium. I pilotforsøket ble 720 kopepoditter tilført tank 1 som på dette tidspunktet var uten fisk (figur 8). Avløpsvannet fra tank 1 ble videreført til tank 4 som inneholdt 12 atlantisk laks. Målet med dette pilotforsøket var å undersøke om lakseluskoepodittene overlever transport gjennom avløpsrørene og om lusene er i stand til å feste seg til laksen etter transport gjennom rørene, hvilke stadium og om den hadde festet seg til finner eller kropp. Fisken ble undersøkt etter 18 dpi og det var 100% prevalens. Det var gjennomsnittlig 23 lus festet til fisken (mean intensity) (84,9% på finner og 15,1% på kropp) og det ble funnet 271 Ch II av totalt 720 kopepoditter. Dette tilsvarer en smittesuksess på 37,6%. Kun Ch II-stadie ble funnet på fisken. Fiskens gjennomsnittlige lengde var 32,7 ($\pm 1,7$) cm og vekt var 409,0 ($\pm 68,6$) g. Resultater fra pilotforsøket er ført i appendiks A (tabell 1A og 2A) og B (tabell 1B).

3.1 Pukkellaks og atlantisk laks infisert med *Lepeophtheirus Salmonis*

3.1.1 Prøveuttak tank 1 – pukkellaks (*Oncorhynchus gorbuscha*)

Under hovedforsøket ble 29 pukkellaks plassert i tank 1 (figur 8) og smittet med 5600 lakseluskoepoditter og det ble gjort uttak fra tank 1 ved 9 ulike tidspunkt (4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 17 og 18 dpi). De syv første uttakene av fisk bestod av 3 fisk og de to siste av 4 fisk. Det ble undersøkt om lakselus var festet til laksen, hvilke stadium og hvilke områder av kroppsoverflaten lusen foretrakk å feste seg til. Fisken hadde en gjennomsnittlig vekt på 206,5g ($\pm 72,9$ g) og gjennomsnittlig lengde på 27,2cm ($\pm 3,2$ cm). Ingen av pukkellaksene var kjønnsmodne.



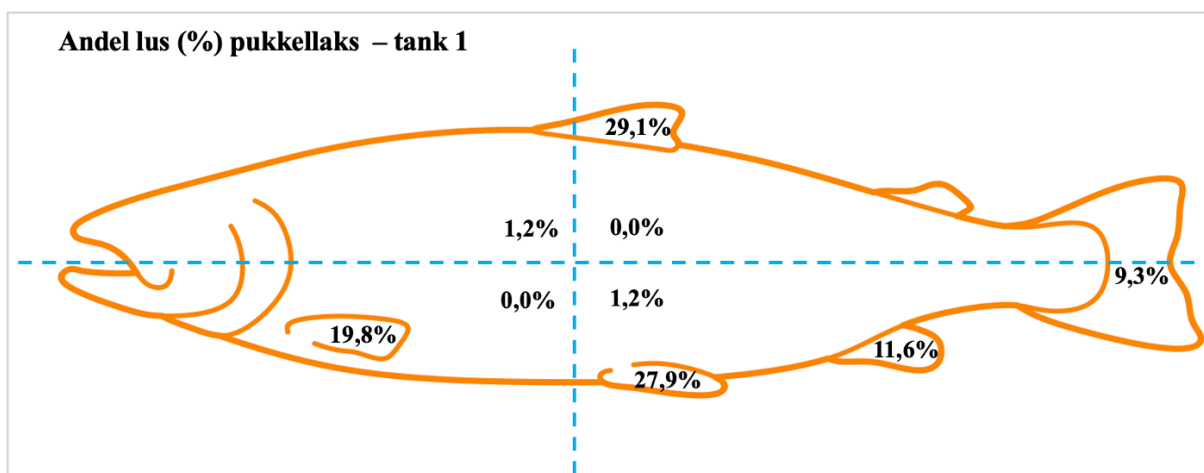
Figur 8: Eksperimentelt oppsett ved hovedforsøk. Tank 1 inneholder 29 pukkellaks og tank 2-4 inneholder hver 12 Atlantisk laks. På bildet filtreres avløpsvann fra tank 1, mens avløpsrørene til tank 2-4 ikke er aktive.

På fisken fra tank 1 ble det funnet totalt 86 lakselus (60 kopepoditter og 9 chalimus I) inkludert 17 prøver for histologi der lusen ikke ble stadiebestemt på de 29 pukkellaksene. Funn av lus i bakke og bedøvelsesvann er ikke medregnet i tabell 2. Prevalens, mean intensity og mean abundance av lakselus hos pukkellaks i tank 1 for de ulike uttaksdager vises i tabell 2. Kun ved to prøveuttak (5 og 6 dpi) ble det gjort funn av lakselus hos alle undersøkte fisk, med henholdsvis et totalt antall på 12 og 34 lus. Størst mean abundance var 11,3 ved 6 dpi. Mean intensity var større eller lik mean abundance på alle uttaksdager.

Tabell 2: Prevalens, mean intensity og mean abundance av lakselus hos pukkellaks i tank 1.

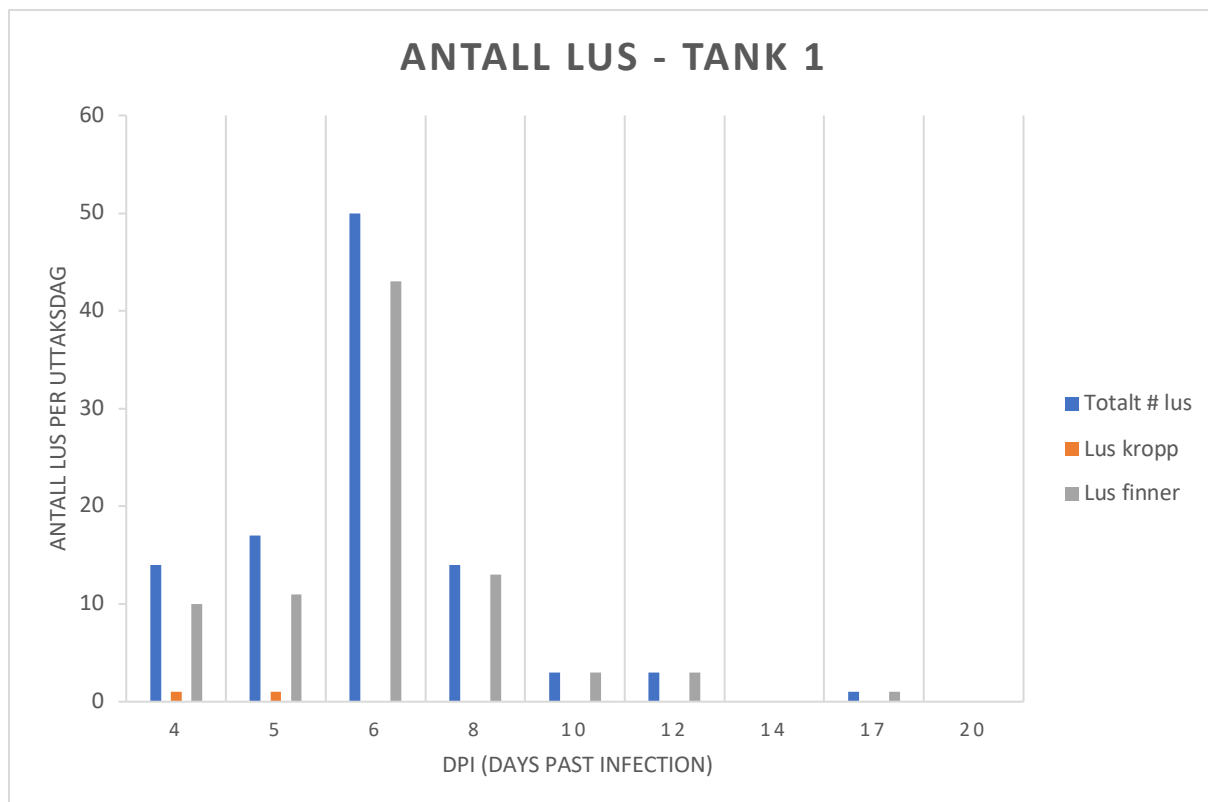
dpi	n undersøkt	Prevalens	n lakselus	Mean intensity	Mean abundance
4	3	66,7 %	11	5,5	3,7
5	3	100 %	12	4,0	4,0
6	3	100 %	34	11,3	11,3
8	3	66,7 %	13	6,5	4,3
10	3	66,7 %	3	1,5	1,0
12	3	66,7 %	4	2,0	1,3
14	3	0 %	0	0,0	0,0
17	4	33,3 %	1	1,0	0,3
18	4	0 %	0	0,0	0,0

Histologiske prøver er medregnet i tabell 2 og figur 9. Lusens foretrukne plassering (figur 9) var dorsalfinne (29,9%), ventralfinne (27,6%) og pectoralfinne (19,5%). Kun 2,2% av lusene var festet til kroppen (1,1% anterior back (AB) og 1,1% posterior abdomen (PA)). Det ble i tillegg gjort funn av totalt 31 lus i bedøvelsesvannet (ved hver prøvetakingsdag ble det benyttet ett kar med bedøvelse) og totalt 16 lus i bakkene som fisken lå i ved undersøkelse. Oversikt over hvor lusene var festet til fisken er oppført i appendiks B (tabell 2B). Det ble registrert en svak økning i funn av lus på pukkellaks fra 4 til 5 dpi før en rask økning i antall lus på dag 6 dpi (figur 10). Ved 6 dpi ble det på første undersøkte fisk funnet totalt 30 lakselus på finner på som ble undersøkt (7 på dorsalfinne, 6 på pectoralfinner, 10 på pelvicfinner, 3 på analfinne og 4 på caudalfinne). Videre var det en tilbakegang i antall lus fra 8 dpi med siste registrering av lus gjort 17 dpi. Første funn av chalimus I ble gjort ved 8 dpi.



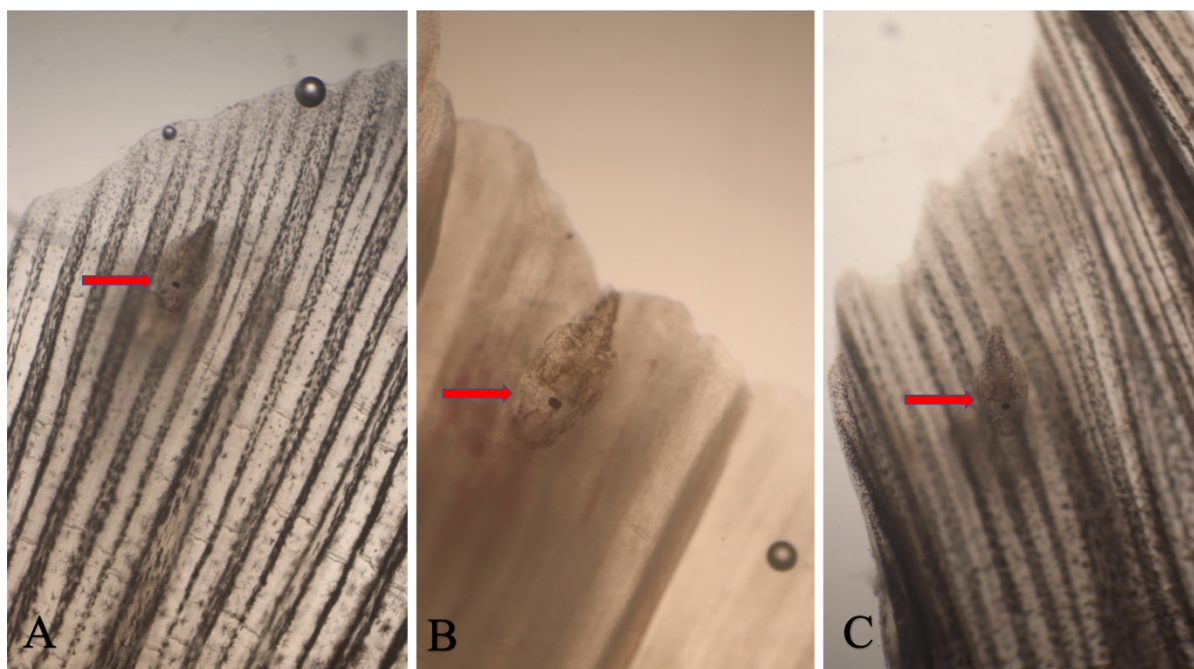
Figur 9: Kroppsoverflaten til pukkellaks (*Oncorhynchus gorbuscha*) viser prosentvis andel av lakselus (*L. Salmonis*) i hvert område ved sampling av tank 1.

Nedlastet fra: <https://www.dimensions.com/element/atlantic-salmon>



Figur 10: Antall lakselus (*L. salmonis*) på pukkellaks (*Oncorhynchus gorboscha*) fra 4 til 20 dager etter smitte. Figuren viser totalt antall lus (lus kropp, finner og undersøkelsesbakke) (blå søyle), lus kropp (oransje søyle) og lus finner (grå søyle) på fisk undersøkt ved ulike tidspunkt etter smitte (dpi).

Majoriteten av lakselus som var festet til pukkellaks ble funnet på finnene (figur 9) og var ofte plassert helt ytterst på tuppen av finnen som vist på figur 11 av chalimus I. Bilde A og B er tatt 10 dpi, og bilde C er tatt 12 dpi. Bilde A, B og C er tatt med Canon EOS R kamera med Olympus DF PLFL 1,6X PF stereo mikroskop objektivlinse ved hjelp av Olympus Stereo Microscope SZX12. Bilde A og C er tatt med forstørrelse 20 x på mikroskop, og bilde B er tatt med 32 x forstørrelse. Det ble kun funnet to lus på kroppen til pukkellaks (buk ved 4 dpi og gjellelokk ved 5 dpi). Det ble ikke sett noen makroskopiske sykdomstegn/reaksjon som følge av lusene.



Figur 11: *Lakselus (Lepeophtheirus salmonis)* av *chalmus I* vist med rød pil på finner til pukkellaks (*Oncorhynchus gorbuscha*). Alle bilder er tatt med Canon EOS R kamera med Olympus DF PLFL 1,6X PF stereo mikroskop objektivlinse ved hjelp av Olympus Stereo Microscope SZX12. Bilde A og C er tatt med forstørrelse 20 x på mikroskop, og bilde B er tatt med 32 x forstørrelse.

3.1.2 Prøveuttak tank 2, 3 og 4 – Atlantisk laks (*Salmo salar*)

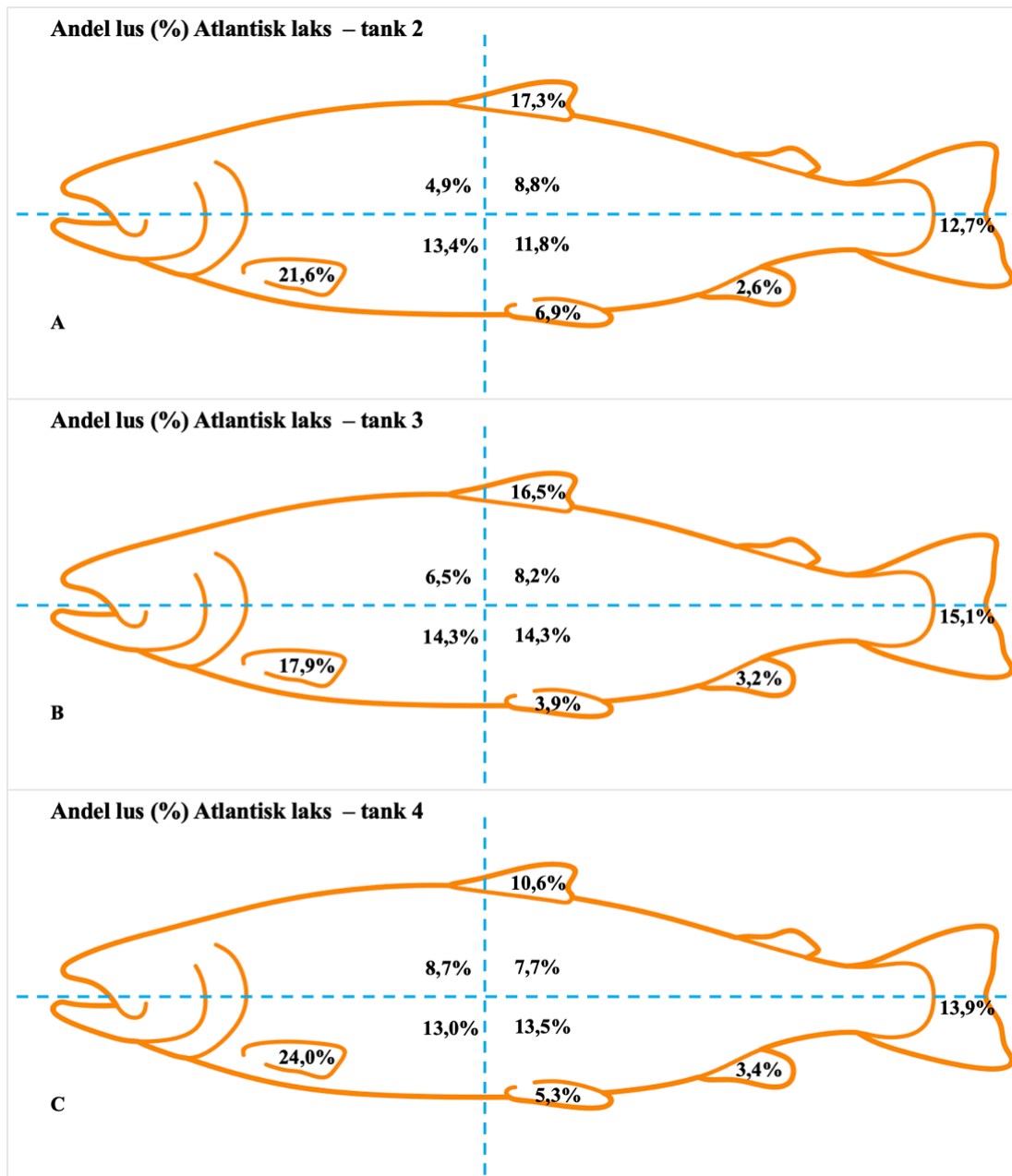
Atlantisk laks som var smittet med lakselus ved å få avløpsvann fra tanken med pukkellaks, ble undersøkt ved tre ulike tidspunkt; tank 2 ved 18 dpi, tank 3 ved 19 dpi og tank 4 ved 20 dpi. Alle dagene ble 12 fisk systematisk undersøkt for lus på kropp og finner, og det ble tatt ut prøver som ble fiksert på karnowsky for histologiske undersøkelser. Gjennomsnittlig lengde og vekt var for tank 2: 33,6cm ($\pm 2,1$ cm) og 451,5g ($\pm 94,3$ g), tank 3: 34,1cm ($\pm 2,3$ cm) og 460,6g ($\pm 107,2$ g) og tank 4: 33,8cm ($\pm 1,9$ cm) og 439,0g ($\pm 82,8$ g). Hovedandelen av lusene ble forventet å være Ch II ved uttak 18-20 dpi, men de første preadulte I (Pa I) hannene var mulig å finne ved 19 dpi. Prevalens av lakselus var 100% på alle undersøkte fisk i tank 2-4. Tabell 3 viser antall lakselus fordelt på ulike utviklingsstadier funnet på Atlantisk laks i tank 2, tank 3 og tank 4. I alt 793 lakselus var den totale antall mengden lakselus som ble funnet på atlantisk laks som hadde fått avløpsvann fra kar med pukkellaks (ekskludert lus i undersøkelsesbakke og bedøvelsesvann). I undersøkelsesbakker ble det funnet 4 lakselus ved uttak fra tank 3 og 5 lus fra tank 4. I bedøvelsesvann ble det funnet 4 lakselus etter uttak fra tank 2 og 1 lus etter uttak fra tank 4. Det ble benyttet samme bedøvelsesvann på all fisk på samme uttaksdag. Funn av antall lus er størst i tank 2 med 306 lakselus, for siden å avta med

funnt av 279 lakselus i tank 3 og 208 lakselus i tank 4, noe som er statistisk signifikant (p -verdi = 0,018). Histologiske prøver er medregnet i Totalt # lus i tabell 3, mens funn av lus i bakke og bedøvelsesvann ikke er medregnet. Smittesuksess i tank 2 var 32,9%, tank 3 var 32,8% og tank 4 var 32,4%. Det var 100% prevalens i tank 2-4.

Tabell 3: Oversikt over antall chalimus I (Ch I), chalimus II (Ch II) og preadulte (Pa) lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) funnet på Atlantisk laks (*Salmo salar*) i tank 2, tank 3 og tank 4. Histologiske prøver (med lus) er definert som «Histo», og er medregnet i Totalt # lus.

Stadieinndeling av lakselus hos Atlantisk laks							
dpi	Tank	Mean +/- SD	Ch I	Ch II	Pa	Histo	Totalt # lus
18	2	25,5 +/- 7,6	2	293	0	11	306
19	3	23,3 +/-7,5	2	266	1	10	279
20	4	17,3 +/- 5,1	1	170	27	10	208
Totalt # lus			5	729	28	31	793

Av 306 lus som ble funnet på kropp og finner i tank 2, var 2 lus chalimus I (Ch 1) og resterende chalimus II (Ch2). Det ble ikke funnet preadulte lus i tank 2. I tank 3 ble det totalt funnet 279 lus, hvorav 2 var Ch I og 276 var Ch II. Det ble funnet 1 preadult lus i tank 3. I tank 4 ble det samlet funnet 208 lus som fordelte seg på 1 av Ch I, 180 av Ch II og 27 preadulte lus. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller i tank 2 – 4 for Ch I ($p = 0,80711532$). Signifikante forskjeller ble funnet for tank 2 – 4 for Ch II ($p = 0,00246359$) og preadult ($p = 2,65E-06$). Preadulte som ble funnet var ikke i filament, men beveget seg på finnene ved berøring av pinsett. Lakselusen foretrakk å feste seg til finner (tank 2: 61,1%, tank 3: 56,6% og tank 4: 57,2%) fremfor kroppen (tank 2: 38,9%, tank 3: 43,4% og tank 4: 42,8%) (figur 12). Andel lus var størst på pectoral-, dorsal- og caudalfinnene på alle tre prøvetakingsdagene av Atlantisk laks. Forekomsten av lus var høyere på den ventrale siden av fisken (tank 2: 64%, tank 3: 66% og tank 4: 62%) i forhold til den dorsale siden (tank 2: 36%, tank 3: 34%, tank 4: 38%) når man ser bort fra finnene.

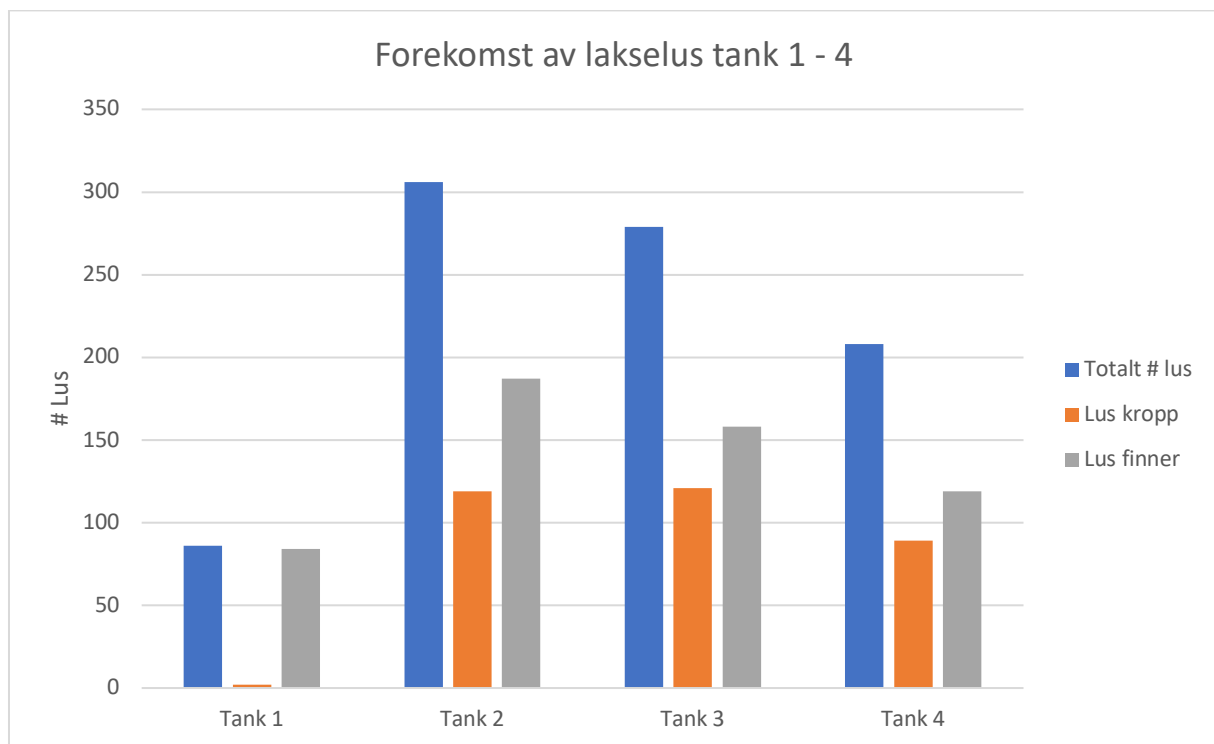


Figur 12: Kroppsoverflaten til Atlantisk laks (*Salmo salar*) som viser andel (prosent) av lakselus (*L. salmonis*) i hvert område ved sampling av tank 2 (A), tank 3 (B) og tank 4 (C).

Nedlastet fra: <https://www.dimensions.com/element/atlantic-salmon>

3.1.3 Sammenligning av lakselusdata fra pukkellaks og Atlantisk laks

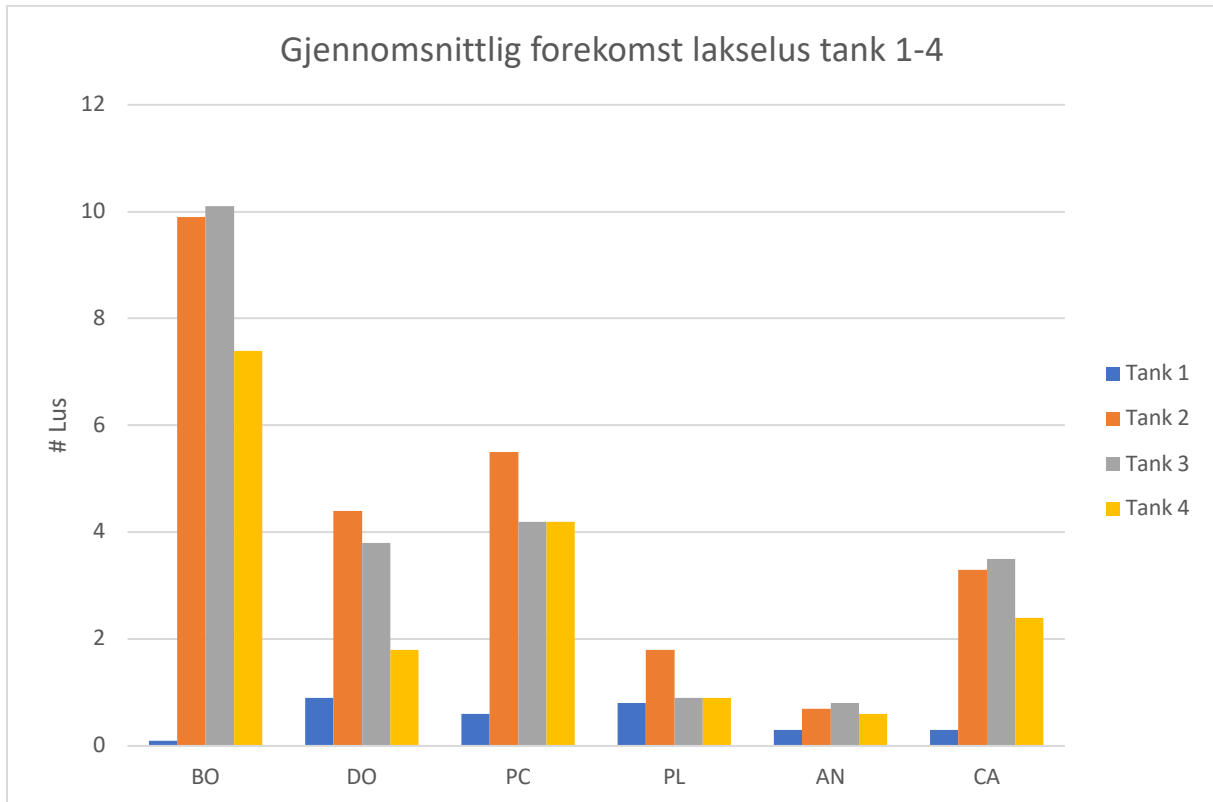
Figur 13 viser forekomst av lakselus i tank 1-4 (inkludert histologiske prøver). Pukkellaks fra tank 1 ble undersøkt for lus ved 9 ulike tidspunkt (4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 17 og 18 dpi) og det ble funnet totalt 86 lakselus. Tank 2, tank 3 og tank 4 ble samlet ved 3 ulike påfølgende dager fra 18 – 20 dpi. Både pukkellaks og atlantisk laks hadde flest antall lus på finnene i forhold til kroppen. På pukkellaksene ble 2 lakselus funnet på kroppen, mens hovedandelen var på finner (84 lakselus). På atlantisk laks ble det funnet flest lakselus i tank 2 ved 18 dpi og færrest i tank 4 ved 20 dpi. Totalt antall lus hos atlantisk laks er synkende fra 18 – 20 dpi, og er statistisk signifikant (p-verdi = 0,018). Det sees en noe forhøyet andel lakselus på kroppen i tank 3 (121 lus) i forhold til tank 2 (119 lus).



Figur 13: Forekomst av lakselus på pukkellaks og atlantisk laks i tank 1-4. Blå søyle viser totalt antall lus på kropp og finner, oransje søyle viser funn av lus på kropp og grå gir antall lus på finner.

Gjennomsnittlig forekomst av lakselus i de fire tankene fordelt på kropp (BO), dorsalfinnen (DO), pectoralfinner (PC), pelvic finner (PL), gattfinner (AN) og caudalfinnen (CA) ble beregnet, der histologiske prøver også er inkludert (figur 14). Foruten hos pukkellaksen i tank 1, var det høyeste forekomst av lakselus på kroppen. Videre følger pectoralfinner, dorsalfinner og caudalfinne hos atlantisk laks. Pukkellaks hadde flest lakselus festet til dorsalfinnen, pectoralfinner og pelvic finner. Uttak av fisk i tank 1-4 ble gjort på ulike dager, og

lakselusene som ble funnet var derfor i forskjellige utviklingsstadier. De første preadulte hannene vil i dette forsøket være forventet å finne ved 19 og 20 dpi, det vil si når det ble gjort uttak fra tank 3 og 4.



Figur 14: Gjennomsnittlig forekomst av lakselus (*L. salmonis*) per fisk på kroppen og finner hos pukkellaks (tank 1: blå søyle) og Atlantisk laks (tank 2: oransje søyle, tank 3: grå søyle og tank 4: gul søyle). Kropp (BO), dorsalfinner (DO), pectoralfinner (PC), pelvic finner (PL), gattfinne (AN) og caudalfinne (CA).

Det ble ikke funnet signifikante forskjeller i tank 2-4 for kropp (AB=anterior back, PB=posterior back, AA=anterior abdomen og PA=posterior abdomen), pectoral-, pelvic-, anal-, og caudalfinner (tabell 4). Histologiske prøver er medregnet i tabell 4 mens funn av lus i bakke og bedøvelsesvann ikke er medregnet her, men er vist i tabell 6. Signifikante forskjeller ble kun funnet for dorsalfinner i tank 2-4. Tabell 4 viser totalt antall lus i prosent funnet på de ulike kroppsområdene tilknyttet de ulike karene, tank 1-4, med tilhørende p-verdier for tank 2-4. Da totalt antall lus i tank 1 er så lav, av ulike stadier og gjort uttak på ulike tidspunkt, er de ikke tatt med i sammenligning med tank 2-4 for signifikante forskjeller.

Tabell 4: Totalt antall lus i prosent (*L. salmonis*) på finner og kropp (AB=anterior back, PB=posterior back, AA=anterior abdomen og PA=posterior abdomen) for tank 1-4 med p-verdi (sign. forskjeller) for tank 2-4.

Område	Totalt antall lus (%)				Sign. forskjell ($p \leq 0,05$) (Tank 2, 3 og 4)
	Tank 1	Tank 2	Tank 3	Tank 4	
Dorsalfinner	29,1	17,3	16,5	10,6	p = 0,007
Pectoralfinner	19,8	21,6	17,9	24,0	p = 0,27
Pelvicfinner	27,9	6,9	3,9	5,3	p = 0,12
Analfinner	11,6	2,6	3,2	3,4	p = 0,90
Caudalfinner	9,3	12,7	15,1	13,9	p = 0,27
AB	1,2	4,9	6,5	8,7	p = 0,88
PB	0,0	8,8	8,2	7,7	p = 0,26
AA	0,0	13,4	14,3	13,0	p = 0,28
PA	1,2	11,8	14,3	13,5	p = 0,35

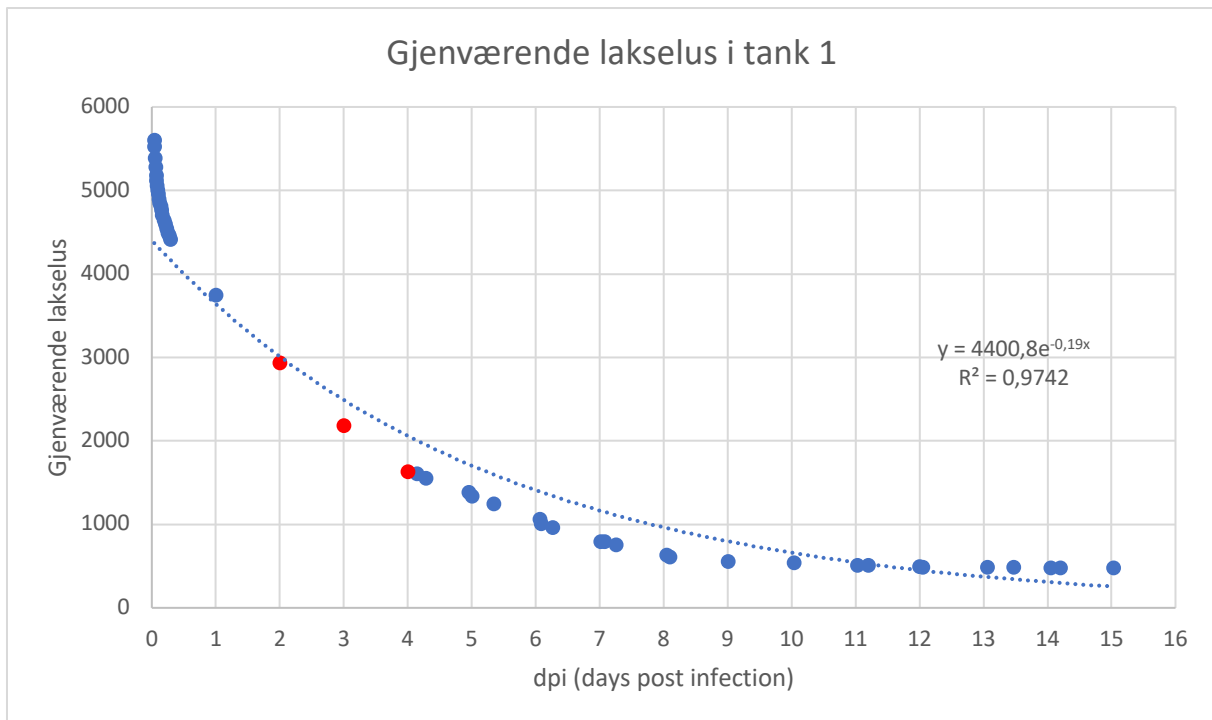
3.2 Filterdata

Filter ble benyttet på avløpsvannet fra tank 1 etter at vannet hadde steget til normalnivå fra smittetidspunkt (tabell 5) og frem til overføring av avløpsvann fra tank 1 til tank 2-4 startet. To ulike filter ble vekselvis benyttet, med maskestørrelse 125 μm og 150 μm . Filter ble ikke benyttet på avløpsvannet i de tre periodene da tank 2, tank 3 og tank 4 fikk avløpsvann fra tank 1 (se tabell 5). Etter overføring av avløpsvann fra tank 1 til tank 2-4, fortsatte filtrering av avløpsvannet fra tank 1 frem til 15,03 dpi. Ved ett tilfelle var det gjennomført fôring av fisk og det var derfor mye grums i filteret. Ved 6 senere tidspunkt, med total varighet mindre enn 20 timer, var filteret tatt av grunnet fôring av fisken. Første chalimus I ble funnet etter 7 dpi, og mot slutten av forsøket ble det funnet to stykk chalimus II ved 14 dpi i filteret. Oversikt over filterdata er registrert i appendiks D.

Tabell 5: Oversikt over tidspunkt for smitte av pukcellaks med lakselus i tank 1 og tidspunkt for overføring av avløpsvann fra tank 1 til tank 2-4 samt aktivt filter.

Smitte, avløpsvann og filter			
	Start	Slutt	dpi
Smitte tank 1	04.11.2022 09:00	04.11.2022 09:55	0,04
Filter tank 1	04.11.2022 09:55	05.11.2022 08:55	1,00
Avløpsvann tank 1 til tank 2	05.11.2022 08:55	06.11.2022 09:00	2,00
Avløpsvann tank 1 til tank 3	06.11.2022 08:55	07.11.2022 09:00	3,00
Avløpsvann tank 1 til tank 4	07.11.2022 08:55	08.11.2022 09:00	4,00
Filter tank 1	08.11.2022 09:00	19.11.2022 09:50	15,03

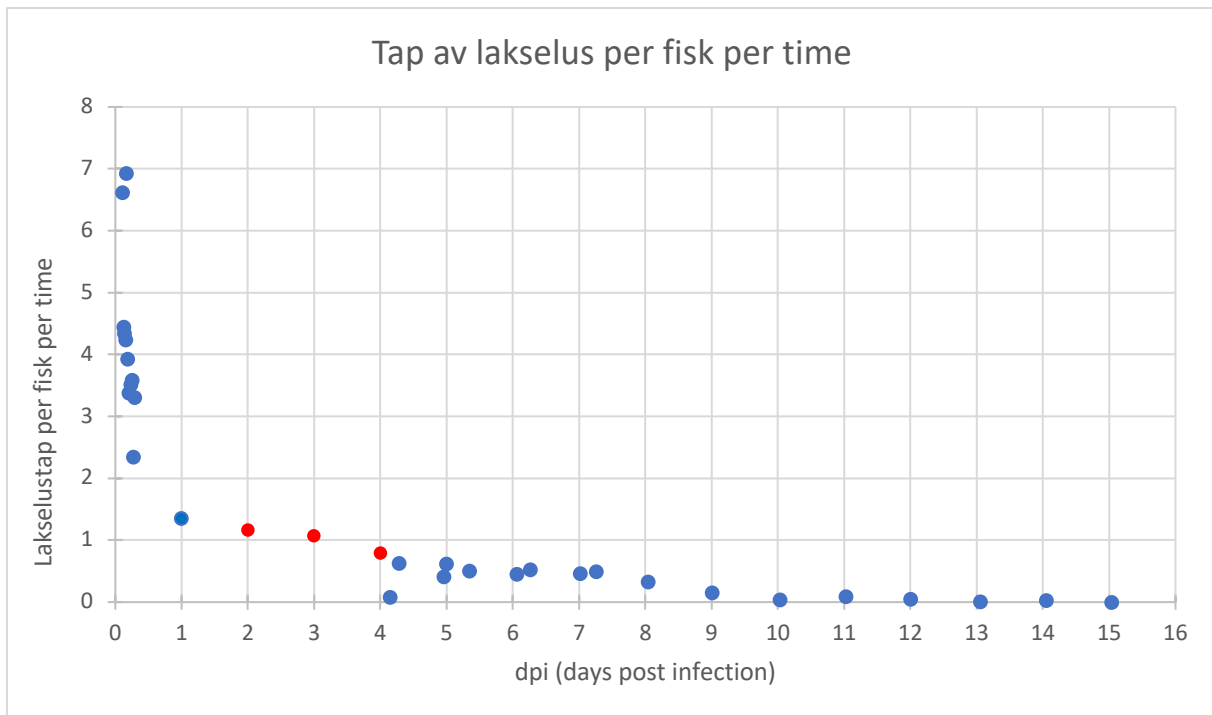
Gjenværende lakselus i tank 1 (figur 15) viser en hurtig avtakende kurve før den etter 8 til 10 dpi flater ut. X-aksen viser dpi fra 0 til 16. Y-aksen viser gjenværende lakselus i tank 1, og baserer seg på funn av lakselus i filter (blå punkter baserer seg på funn i filteret på avløpsvannet fra tank 1 fra 0-24 timer etter smitter med lakselus og 4-16 dpi). Røde punkter er estimert ut ifra når tank 2-4 mottok avløpsvann og filteret ikke var aktivt. I tank 2-4 er det lagt til grunn en forventet smittesuksess på 37,6% (som utregnet ved pilotforsøk) og mean abundance utregnet for funn av lakselus i tank 2-4. Trendlinje på figur 8 gir $R^2 = 0,9742$. Appendiks D gir data for funn av lakselus og estimering av lakselus i tank 2-4.



Figur 15: Gjenstående lakselus i tank 1. Blå punkter er antall gjenstående lakselus i tank 1 basert på antall lus funnet i avløpsvannet som passerte filteret fra tank 1. Røde punkter er estimert ut ifra når tank 2-4 mottok avløpsvann og filteret ikke var aktivt. I tank 2-4 er det lagt til grunn en forventet smittesuksess på 37,6% (som utregnet ved pilotforsøk) og mean abundance utregnet for funn av lakselus i tank 2-4.

Trendlinje gir $R^2 = 0,9742$.

Antall lakselus som hver fisk taper hver time fra 0 til 16 dpi er vist i figur 16. Hver fisk taper store mengder lakselus de første to døgnene. X-aksen viser dpi fra 0 til 16. Y-aksen viser lakselustap per fisk per time, og baserer seg på funn av lakselus i filter (blå punkter er funn av lakselus i filteret som ble benyttet på avløpsvannet til tank 1) og der de røde punktene er estimert tap fra pukkelaks når tank 2-4 mottok avløpsvann (der filteret ikke var aktivt). I tank 2-4 er det lagt til grunn en forventet smittesuksess på 37,6% (som utregnet ved pilotforsøk) og mean abundance utregnet for funn av lakselus i tank 2-4. Det er videre estimert et kopepodittap dersom forventet smittesuksess på 37,6%.



Figur 16: Tap av lakselus per fisk per time. Blå punkter er antall lakselus funnet i avløpsvannet som passerte filteret fra tank 1. Røde punkter er estimert tap fra pukkellaks da tank 2-4 mottok avløpsvann og filteret ikke var aktivt.

Av totalt 5600 copepoditter av *L. salmonis* som 29 pukkellaks ble smittet med, ble det gjort rede for 3831 lus innen forsøket var avsluttet (tabell 6). Dette utgjør en prosentvis andel på 68,4% lakselus og inkluderer lus funnet på pukkellaks og atlantisk laks i tillegg til i undersøkelsesbakke, bedøvelsesvann og filter. Største andel av lus ble funnet i filteret som filtrerte avløpsvannet til tank 1, med henholdsvis 1852 lus (33,07 %) før overføring av avløpsvann til tank 2-4, og 1039 lus (18,55 %) etter overføring. Uttak fra tank 1-4 inkluderer histologiske prøver.

Tabell 6: *L. salmonis* gjenfunnet i filter og tank 1-4 (uttak, bakke og bedøvelsesvann) i prosent (%) og antall (n).

* = uttak av fisk ved ni ulike tidspunkt (4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 17 og 18DPI).

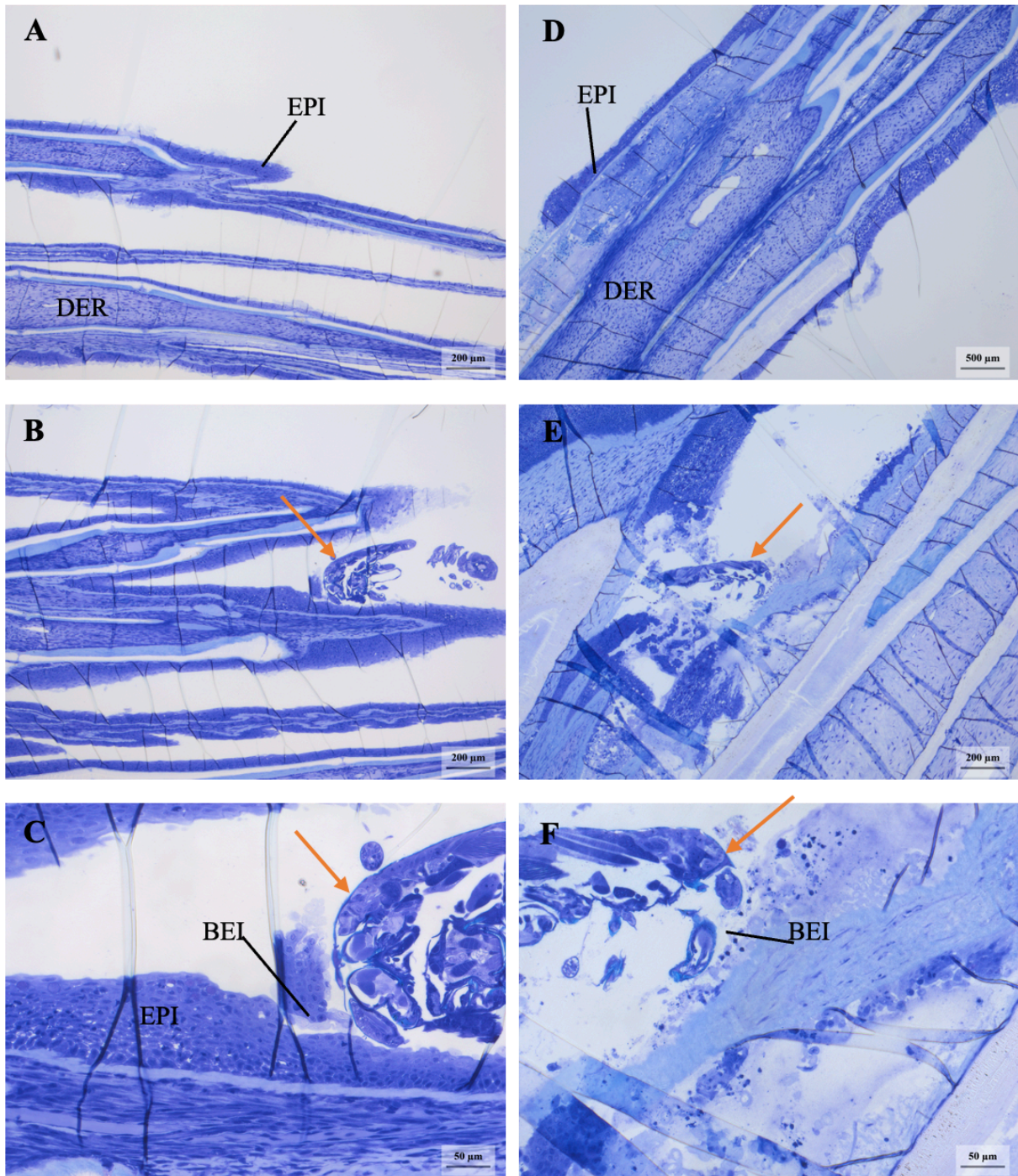
	DPI	Prosent	n lus
Smittetidspunkt	0	100,00 %	5600
Filter	0,05 - 1,00	33,07 %	1852
Filter	4,00 - 20,08	18,55 %	1039
Tank 1 uttak		1,54 %	86
Tank 1 bakke	*	0,29 %	16
Tank 1 bedøvelsesvann		0,55 %	31
Tank 2 uttak		5,46 %	306
Tank 2 bakke	18	0,00 %	0
Tank 2 bedøvelsesvann		0,07 %	4
Tank 3 uttak		4,98 %	279
Tank 3 bakke	19	0,07 %	4
Tank 3 bedøvelsesvann		0,00 %	0
Tank 4 uttak		3,71 %	208
Tank 4 bakke	20	0,09 %	5
Tank 4 bedøvelsesvann		0,02 %	1
Total lus prosent (%) og antall (n)	0-20	68,41 %	3831

3.3 Histologi

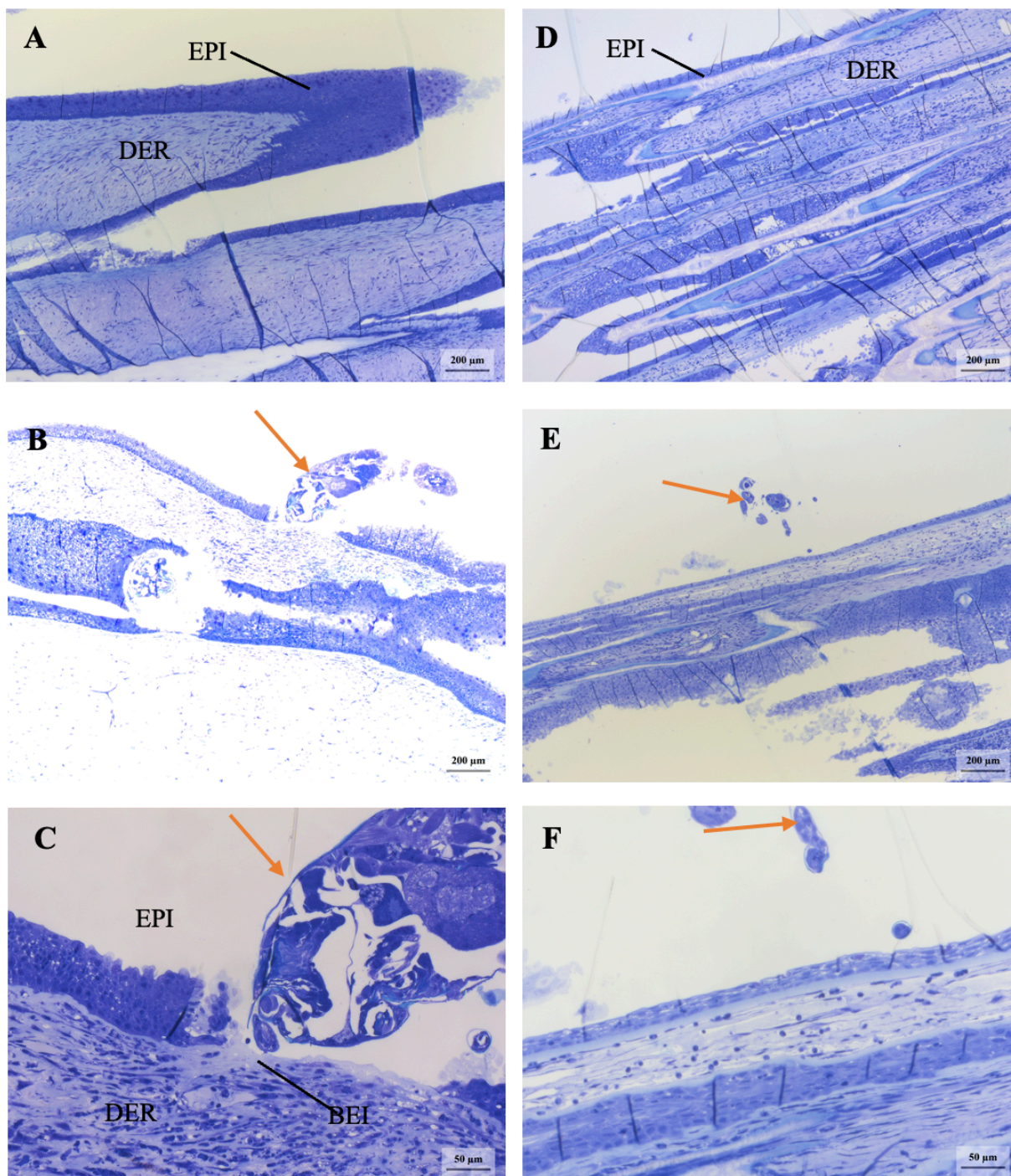
Histologiske prøver med og uten lakselus ble tatt av pukcellaks og Atlantisk laks under hovedforsøket og alle prøvene ble lagt på karnowsky fiks. Det ble tatt 16 prøver av pukcellaks i tank 1. Fra tank 2 ble det tatt 11 prøver av Atlantisk laks, 10 prøver i tank 3 og 10 prøver i tank 4. Det ble støpt inn 4 prøver med og uten lus fra pukcellaks, og totalt 9 prøver med og uten lus fra tank 2-4 av Atlantisk laks. Prøvene som ble støpt inn av pukcellaks, var tatt ved 4 og 6 dpi. Prøvene som ble støpt inn av Atlantisk laks var tatt av tank 2 ved 18 dpi, tank 3 ved 19 dpi og tank 4 ved 20 dpi.

For å ha sammenligningsgrunnlag med prøvene av pukcellaks i tank 1, ble det utført et sekundært smitteforsøk av Atlantisk laks. Åtte Atlantiske laks ble smittet med 1200 kopepoditter og de ble holdt under tilsvarende forhold som ved hovedforsøket. Kopepodittene tilhørte LS-Gulen, og alle kopepodittene var minst tre dager gamle. Det ble gjort uttak av fire fisk ved både 4 og 6 dpi for å ta prøver for histologisk undersøkelse av tilsvarende områder som av pukcellaksen. Begge uttaksdagene ble det støpt inn 4 prøver med og uten lus.

Histologiske snitt av bukfinner ved 4 dpi viser ingen tegn til økt antall slimceller eller hyperplasi (figur 17). Snitt fra uinfisert hud (kontrollsnitt), er tatt fra tilsvarende område som infisert hud på samme fisk. Histologiske snitt av bukfinner ved 6 dpi viser ingen til økt antall slimceller eller hyperplasi (figur 18). Snitt fra uinfisert hud (kontrollsnitt), er tatt av tilsvarende område som infisert hud på samme fisk. Epidermis (EPI), dermis (DER) og område der lusen beiter (BEI) er merket på noen av bildene på figur 17 og 18.



Figur 17: Histologiske snitt av bukfinner ved 4 dpi. Bilde A, B og C er Atlantisk laks med kontrollområde av finne på bilde A. Bilde D, E og F er pukkellaks med kontrollområde av finne på bilde D. Oransje pil viser lakselus. Epidermis (EPI), dermis (DER) og område der lusen beiter (BEI) er merket på noen av bildene. Vevsbitene er støpt i plastikk og farget med toluidinblått. Målestokk er vist på bilde.



Figur 18: Histologiske snitt av brystfinner ved 6 dpi. Bilde A, B og C er Atlantisk laks med kontrollområde av finne på bilde A. Bilde D, E og F er pukkellaks med kontrollområde av finne på bilde D. Oransje pil viser lakselus. Epidermis (EPI), dermis (DER) og område der lusen beiter (BEI) er merket på noen av bildene. Vevsbitene er støpt i plast og farget med toluidinblått. Målestokk er vist på bilde.

4 Diskusjon

Lakseoppdrettere i Norge har de siste årene fått økte produksjonskostnader grunnet infeksjoner med lakselus (Abolofia et al., 2017; Costello, 2009a). Dette skyldes flere årsaker; kostnader med behandling, økt dødelighet på grunn av behandlingen og redusert fiskevelferd. Norge har de senere årene opplevd en økende invasjon av pukkellaks (*Oncorhynchus gorbuscha*) (Sandlund et al., 2019). Fra 2017 har det vært en markant økning i antall pukkellaks og utvidelse av den geografisk utbredelse i Norge med mange rapporter og store mediaoppslag. Pukkellaks sin betydning og effekt på Norsk villaks er mangelfull og i tillegg er det stor usikkerhet knyttet til den fremtidig utvikling. I 2021 var tilstrømningen av pukkellaks til Norges kyst og elver betydelig høyere enn tidligere år, og det vil være behov for ytterligere studier og nasjonale tiltak mot den økende forekomst av kjønnsmoden pukkellaks. I hvilken grad pukkellaks er en egnet art for den Atlantiske underarten av lakselus er ikke godt kjent.

Pukkellaks er kjent for å være praktisk talt resistent mot lakselus i første del av den marine fasen i Stillehavet, men individer som kommer inn fra havet til elvene har på seg lakselus. Smitteforsøk med høye doser med *L. salmonis oncorhynchi* kopepoditter viser typisk en rask nedgang i tallet på lus sent i kopepodittfasen og ved chalimus I (Jones et al., 2007), og tilsvarende er observert i upublisert studier fra SLRC (figur 4, Nilsen et al. upublisert). Hva som skjer med kopepodittene som har vært på pukkellaks er ukjent og er et viktig mål i denne oppgaven, og en spesiell smittemetode er etablert og testet til dette formålet. I pilotforsøket ble det undersøkt og kvalitetssikret at lakseluskopepodittene overlevde transport fra tank 1 via avløpsrør til tank 4 (figur 8) og om lusene var i stand til å infisere laksen og vokse opp normalt på laksen. Dette ble bekreftet ved at det ble funnet 271 chalimus II larver på fisken av de totalt 720 lakseluskopepoditter som ble brukt som smittedosen. Dette tilsvarer en smittesuksess på 37,6% og er godt innenfor resultater fra tidligere studier der smittesuksess er registrert (Hamre et al., 2009).

I hovedforsøket ble karet med 29 pukkellaks tilført 5600 lakselus (*L. salmonis salmonis*) kopepoditter for å undersøke om de klarte å infisere atlantisk laks etter å ha vært festet til huden på pukkellaks fra 24 til 96 timer. Av de totalt 5600 kopepodittene som ble benyttet til å smitte pukkellaks med i tank 1, ble det fra 0-20 dpi funnet igjen 3831 av lusene i filter, på fisk i tank 1-4, i bakker og i bedøvelsesvann (se tabell 6). Dette tilsvarer 68,4% av kopepodittene som ble brukt ved smittetidspunkt i tank 1. De resterende kopepodittene er det ikke gjort rede

for, men en stor andel er sannsynligvis gått i avløpet på tank 2, 3 og 4 siden det ikke var filter der. I alt ble 807 (inkludert lus i undersøkelsesbakke og bedøvelsesvann) funnet på fisken i tank 2-4, 18-20 dpi etter smitte av tank 1 med pukkellaks (tabell 5). Frem til 1,00 dpi ble det funnet 1852 kopepoditter (tilsvarende 33,1%) i filteret i utløpet av tank 1 og det var dermed 3748 igjen på fisken i tank 1 når avløpet ble ført videre til tankene med atlantisk laks. Totalt ble da 22,1% av kopepodittene (når lus funnet på pukkellaksen er trukket fra) funnet igjen på laksen i de tre karene (målt som sene chalimus II/tidlig preadult I) (se tabell 3). Tilsvarende studier der pukkellaks er infisert med lakselus og videreføring av avløpsvann fra kar med pukkellaks til kar med atlantisk laks er ikke kjent, og viser at kopepodittene er i stand til å feste seg på atlantisk laks og vokse normalt etter et opphold på pukkellaks.

Totalt 86 (1,54%) av de 5600 kopepodittene som var smittedosen til pukkellaksen ble gjenfunnet ved uttak og undersøkelse av pukkellaksen, noe som gir en mean abundans på 2,9 lus på pukkellaksen og tilsvarende mean abundans på 22,4 på den atlantiske laksen i tank 2-4. Infeksjonsdata for pukkellaks viser en avtagende trend fra 6 dpi (figur 10). De lavere verdiene på 4 og 5 dpi er trolig på grunn av relativt lite trening med slike undersøkelser av undertegnede og at de minste kopepodittene er spesielt vanskelige å finne. Det ble undersøkt tre fisk ved syv uttaksdager (4, 5, 6, 8, 10, 12 og 14 dpi) og fire fisk på de to siste uttaksdagene (17 og 18 dpi). Da dette er få fisk, må tallene for enkelt-uttak tolkes med forsiktighet, men gir en indikasjon på smittestatus og lusetapet ved de ulike tidspunktene. Det ble registrert lakselus ved syv av ni fiskeuttak, men ingen lakselus ble funnet ved siste uttak ved 18 dpi (og kun en lus i de tre siste uttakene) og det viser at luselarvene forlater pukkellaksen. Den reelle smittesuksessen i de første uttakene av pukkellaks kan være høyere enn registrerte tall, dette fordi lusene var små og vanskelig å se grunnet deres farge mot laksehuden og finnene. Det ble registrert at lusene ofte var festet helt ytterst på finnene (figur 11). Dette kan være en strategi for å unngå en eventuell vertsrespons. Ødegård et al. 2023 fant at aktivering av pro-inflammatoriske gener er lavere i finner enn i hud/skjell hos atlantisk laks infisert med lakseluslarver. Dette er ikke undersøkt hos pukkellaks, men kan være en forklaring på at langt de fleste lakselus ble funnet ytterst på finnene.

Registrerte antall lus i tank 1 er økende frem til 6 dpi før antall lus igjen synker (figur 10). Dette skyldes mest sannsynlig et utrent øye og manglende erfaring da en gjerne ville forventet høyest antall lus ved 4 dpi for så å synke utover i smitteforsøket. Ved 6 dpi ble det på første undersøkte fisk funnet totalt 30 lakselus på finner på som ble undersøkt (7 på dorsalfinne, 6 på

pectoralfinner, 10 på pelvicfinner, 3 på analfinne og 4 på caudalfinne). Dette kan tyde på på en svakere immunrespons hos den ene fisken da det ikke ble gjort tilsvarende funn hos andre av de undersøkte fiskene. For å optimalisere telling av lus ble det benyttet godt lys, mikroskop og forsøk på å opprettholde en god arbeidsstilling. Lakselustelling kan være utfordrende grunnet liten parasittisk størrelse på de første stadiene, hovedsakelig kopepoditter og Ch1 som er $\leq 1,4\text{mm}$ (Eichner et al., 2015).

Frem til 1,00 dpi ble det i filteret funnet 1852 lus (33,1%). Filteret til å fange opp lakselus i avløpsvannet ble kun benyttet på tank 1 der det var pukcellaks smittet med lakselus. I løpet av tiden filteret var aktivt (0,05-1,00 dpi og 4,00-20,08 dpi) ble det registrert 2890 lus i filteret, noe som utgjør 51,6% av den opprinnelige smittedosen. Tidligere studier er ikke tilgjengelig der bruk av filter på avløpsvann er gjennomført. Dersom forsøket skulle vært utført igjen ville det være interessant å bruke filter på avløpsvannet fra tank 2-4 etter tilførsel av avløpsvann fra tank 1, for på den måten kunne klart å fange opp flere av den totale mengden lus som ble brukt ved smitte i tank 1.

I tank 1 ble det gjort uttak ved 9 ulike tidspunkt, og det vil derfor være funn av lus som er på ulike utviklingsstadier. Ved uttak 4 og 5 dpi vil lusene være kopepoditter. De første chalimus I vil normalt være å finne ved uttak 6 dpi og hovedandelen vil være chalimus I ved 7 dpi. Første funn av chalimus I på pukcellaks i studien ble gjort ved 8 dpi. Ved uttak 12 dpi vil de første hannlusene vanligvis ha skiftet stadium til Ch II og hovedandelen vil være utviklet til Ch II ved uttak 16 dpi. Det ble ikke gjort funn av chalimus II på undersøkt fisk, men to chalimus II ble funnet i filter ved 14 dpi. Dette tyder gjerne på at Ch II har falt av, enten ved skallskifte eller kort tid etter, men indikerer at de fleste ikke får festet seg godt på pukcellaksen. Vill juvenil pukcellaks utenfor kysten av British Columbia (Canada) er det tidligere registrert både ikke-mobile og mobile livsstadier av lakselus på (Butterworth et al., 2008).

4.1 Hudområder der lakselusen hadde festet seg på Atlantisk laks

Det er beskrevet at vertens adferd endres når den blir smittet med kopepoditter, og dette fører til kløe og hopping (Grimnes & Jakobsen, 1996). Det ble ikke gjort funn av makroskopiske skader der lusene satt noe som samsvarer med andre studier (Braden, Koop, et al., 2015).

Kopepoditten er på dette tidspunktet ekstra sårbar for å falle av vertsfisken under etableringen av infestasjon. Lusene trenger å modulere den lokale vertsresponsen for å kunne bli værende på

fisken. I denne studien ble det i avsnitt 3.1.2 undersøkt om lakselus (*L. salmonis salmonis*) klarte å infisere og etablere seg på kroppen til atlantisk laks (*Salmo salar*) etter å ha vært festet til pukkellaks. Ved uttak av fisk fra tank 2, som mottok avløpsvann fra tank 1 ved 1-2 dpi, ble det funnet totalt 306 lus (2 Ch I, 293 Ch II og 11 lus på histologiske prøver). Dersom det legges til grunn et tap på 37,6% av kopepodittene fra pukkellaks i tank 1 (se beregninger basert på figur 16 i appendiks D), vil dette gi en smittesuksess på 37,5% i tank 2. Ved uttak av fisk fra tank 3, som mottok avløpsvann fra tank 1 ved 2-3 dpi, ble det funnet totalt 279 lus (2 Ch I, 266 Ch II, 1 preadult og 10 lus til histologiske prøver). Gitt et tap på 37,6% kopepoditter fra pukkellaks i tank 1, vil dette gi en smittesuksess på 37,3% i tank 3. Ved uttak av fisk fra tank 4, som mottok avløpsvann fra tank 1 ved 3-4 dpi, ble det funnet totalt 208 lus (1 Ch I, 170 Ch II, 27 preadult og 10 lus til histologiske prøver). Ch II hannlus har skallskifte tidligere enn Ch II hunnulus (Hamre et al., 2013), og dette er nok også tilfelle i tank 3 og 4. Ved tilsvarende forsøk vil det være hensiktsmessig å starte uttak fra tank 2-4 en dag tidligere.

Dersom det legges til grunn et tap på 37,6% kopepoditter fra pukkellaks i tank 1, vil dette gi en smittesuksess på 37,7% i tank 4. Det er ikke gjort tilsvarende studier der en har undersøkt smittesuksess av lakselus hos atlantisk laks etter at lusen først har infisert og vært festet til pukkellaks (eller annen potensiell vertsfisk) eller er blitt transportert i avløpsrør før sekundær smitte med lusen hos atlantisk laks. Til sammenligning ble det i pilotforsøket registrert en smittesuksess på 37,6% i tank 4, noe som samsvarer med smittesuksess i tank 2-4 da kopepodittene først hadde infisert pukkellaks. Uttak i pilotforsøk og uttak fra tank 2 i hovedforsøket ble gjennomført ved 18 dpi, og som forventet var majoriteten av lus utviklingsstadium Ch II. Det sees ikke stor forskjell i antall lus på fisken i tank 2-4, selv om lusen hadde vært 1 dag lengre på pukkellaksen i tank 3 og 2 dager lengre i tank 4. Dette kan være en indikasjon på at pukkellaksen ikke svekker lusen veldig mye og de bevarer evnen til å etablere seg på en egnet vert.

Det er gjennomført flere studier som undersøker hvor på fiskens kropp de ulike utviklingsstadiene av lakselus velger å feste seg (Bjørn & Finstad, 1998; Todd et al., 2000). Tidligere studier avdekket at *L. salmonis* chalimus II lus hadde høyest forekomst på den ventrale siden (68%), etterfulgt av den dorsale siden (27%) og hodet (5%) (Bui et al., 2020). Det stemmer godt overens med funn som er gjort i dette forsøket der hovedandelen av lakselus ble funnet på den ventrale siden (tank 2: 64%, tank 3: 66% og tank 4: 62%) i forhold til den dorsale siden (tank 2: 36%, tank 3: 34%, tank 4: 38%) (Det skal bemerkes at funn av

lus på hodet er inkludert i dorsal og ventral inndeling i tillegg er finner utelatt fra lus funnet på kropp). Studier har vist at lakselus foretrekker dorsal- og pectoralfinner i tillegg til gjeller som steder å feste seg til fisken (Tucker et al., 2000) og andre studier har vist at dorsalfinnen er den foretrukne finnen med hele 50% av *L. salmonis* chalimus lus (Treasurer & Wadsworth, 2004). Dette samsvarer ikke med resultater i denne studien, der lusen foretrakk pectoralfinner fremfor dorsalfinner. I tank 4 var prosentvis andel lus høyere på caudalfinner over dorsalfinner. Prosentvis andel av lakselus på dorsalfinner avtar fra tank 2-4 (tank 2: 17,3%, tank 3: 16,5 og tank 4: 10,6%). Dette skyldes trolig økning i preadulte lakselus fra 0 i tank 2 videre til 1 i tank 3 og 27 i tank 4. Signifikante forskjeller ble testet ved One-way Anova i Excel for tank 2-4 for antall lakselus på finner og kropp (se tabell 4). Normalt vil det benyttes normalfordelte data ved utregning av signifikante forskjeller ved bruk av bruk av One-way Anova, men det er ikke tilfelle for lakselusdata i dette forsøket. Det ble kun funnet sign. forskjell ($p \leq 0,05$) for dorsalfinner ($p = 0,007$). Disse resultatene bør derfor behandles med forsiktighet, gitt at funn er basert på et begrenset antall fisk.

4.2 Vertsreaksjon i hud ut ifra histologiske undersøkelser

De histologiske undersøkelsene ble utført for å se om det var forskjeller i den lokale vertsresponsen i huden der lakselus larvene var festet på pukkellaks og atlantisk laks. Det var også ønskelig å sammenligne festepunktet til lakselus mot snitt av uinfisert hud til både pukkellaks og atlantisk laks. Funn av svært få lakselus på pukkellaksen satte begrensninger på de histologiske undersøkelsene. I tillegg var det kun mulig å prosessere et begrenset antall prøver for histologi, noe som resulterte i få histologiske preparater av god kvalitet. Områder det ble tatt prøver av ble valgt på bakgrunn av hvor lusen var festet på pukkellaks og hvor det ble funnet lus på de histologiske snittene fra pukkellaks. Pukkellaks hadde kun to lus festet til huden, hvor den ene av de var i hoderegionen (lite egnet for histologi). Prøven av lakselus festet til buken på pukkellaks var ikke mulig å finne igjen på de ferdig preparerte snitt. Mulig lusen har falt av ved vasking av prøven, hvis ikke før. Det ble derfor nødvendig å benytte histologiske snitt av pukkellaks med lakselus festet til finner.

I de histologiske undersøkelsene i denne oppgaven, ble det ikke observert noen tegn til hyperplasi eller økt antall slimceller i epidermis hos pukkellaks der lakseluslarvene var festet. Sammenligning mellom atlantisk laks og pukkellaks viste heller ingen klare forskjeller i vevsresponsen i dette studiet. Det er ved tidligere studier av pukkellaks sett nekrose, leukocytinflammasjon og blødning på histologisk snitt av dorsalfinne der *L. salmonis* er

festet (Jones et al., 2007). I samme studie viste histologisk snitt av gjellefilament med lakselus nekrose og blandet leukocytinfiltrasjon. Andre studier har vist økt antall slimceller hos juvenile atlantisk laks ved infeksjonstidspunkt, men tetthet av slimceller avtok med tiden (Braden, Barker, et al., 2015). En tidligere undersøkelse har sett på hvilken effekt infeksjon med *L. salmonis* har på søvlaks (*Oncorhynchus kisutch*), rødlaks (*Oncorhynchus nerka*) og atlantisk laks (*Salmo salar*) (Braden, Koop, et al., 2015). Alle de tre undersøkte artene hadde ved histologisk vurdering nedbrutt epitel med melaninavleiringer rundt skjellene eller i dermis. Ved 24 dpi ble det observert polymorfonukleære celler (PMN) på infisert laks og ved 48 dpi var det hos coho-laks uttalt epitelhyperplasi og cellulær infiltrasjon. Fisken ble infisert med adulte lakselus. Ulik slimcelletetthet mellom parasitert og ikke-parasitert fisk ble også dokumentert (Braden, Koop, et al., 2015). Det var lavest og uendret tetthet av slimceller hos atlantisk laks, og høyest forekomst av slimceller hos søvlaks med betydelig nedgang etter infeksjon. Øvergård et al. (2023) har nylig vist at det er en tydelig forskjell i aktivering av pro-inflammatoriske gener mellom finner, hud og skjell hos atlantisk laks infisert med lakselus.

Grunnet manglende erfaring på preparering av histologiske snitt, kunne også kvaliteten på de ferdig tillagede preparatene vært bedre. Det er nødvendig med mange snitt fra det samme område og kontrollområde for å kunne stadfeste om området viser tegn til hyperplasi eller lignende. Karakterisering av vev er en komplisert oppgave, og det vil være behov for langt flere snitt og bedre kvalitet for å kunne bestemme endringen som parasitten forårsaker. Det var derfor begrenset hvor mye informasjon det var mulig å få fra snittene som er presentert i oppgaven. Dersom forsøket ble gjort igjen, ville det mulig vært større sannsynlighet å få histologiske snitt med lus festet til pukkellaksens kropp dersom flere fisk var tatt ut samtidig ved 4-6 dpi.

5 Konklusjon

Selv med en høy smittedose klarte ikke atlantisk lakselus å etablere seg på pukkellaks og det ble ikke funnet chalimus II på fisken. Det ble funnet to chalimus II i filteret og indikerer at lakselus ikke greier å feste seg godt til fisken. Et annet viktig funn i denne oppgaven var at lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) klarte å smitte og etablere seg på atlantisk laks (*Salmon salar*) etter å ha vært festet på pukkellaks (*Oncorhynchus gorbuscha*). I tillegg ble det ikke funnet tegn til vertsrespons på histologiske undersøkelser av pukkellaks og atlantisk laks infisert med lakselus.

Pukkellaks er et nytt problemområde de senere årene, og det er nødvendig med nasjonale og internasjonale tiltak for å begrense faren for skade på villaks. Pukkellaks ble for første gang tatt med i offisiell fangststatistikk fra 2019 (Berntsen et al., 2020), noe som vil gi økt kunnskap. Pukkellaksen som når norske elver vil antakelig passere nær norske oppdrettsanlegg, og på den måten kunne bidra til å spre eventuelle sykdommer som er i oppdrettsnæringen. Risikovurdering som er utført på spredning og etablering av pukkellaks i Norge konkluderer med at pukkellaks sin påvirkning på økosystemer og biologisk mangfold langs Norges kyst og elver avhenger av hvor mange pukkellaks som kommer (VKM et al., 2020). Tusenvis av gyteklar fisk som ankommer norske elver, kan ha stor innvirkning på vannkvalitet, biologisk mangfold og lokale laksefisk.

Videre studier med lakselus og pukkellaks kan være med å gi forståelse for hva som gjør en vert egnet (atlantisk laks) og en vert uegnet (pukkellaks), og på denne måten bidra til å utvikle metoder for kontroll. Flere ting fra denne oppgaven bør følges opp i fremtiden.

Smittemetoden kan videre testes med å se på lusetap fra atlantisk laks smittet med lakselus.

De histologiske undersøkelsene bør følges opp ved å undersøke infisert hud fra pukkellaks.

6 Referanseliste

- Abolofia, J., Wilen, J. E., & Asche, F. (2017). The Cost of Lice: Quantifying the Impacts of Parasitic Sea Lice on Farmed Salmon. *Marine resource economics*, 32(3), 329-349. <https://doi.org/10.1086/691981>
- Anderson, C. D., & Roberts, R. J. (1975). A comparison of the effects of temperature on wound healing in a tropical and a temperate teleost. *Journal of fish biology*, 7(2), 173-182. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1975.tb04588.x>
- Beamish, R. J., Neville, C. M., Sweeting, R. M., & Ambers, N. (2005). Sea lice on adult Pacific salmon in the coastal waters of Central British Columbia, Canada. *Fisheries research*, 76(2), 198-208. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2005.06.007>
- Berntsen, H. H., Sandlund, O. T., Thorstad, E. B., & Fiske, P. (2020). *Pukkellaks i Norge, 2019* (Nina Rapport Issue 1821). <https://brage.nina.no/nina-xmlui/bitstream/handle/11250/2651741/1821.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Bjorn, P. A., & Finstad, B. (1998). The development of salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*) on artificially infected post smolts of sea trout (*Salmo trutta*). *Canadian journal of zoology*, 76(5), 970-977. <https://doi.org/10.1139/cjz-76-5-970>
- Bjørn, P. A., & Finstad, B. (1998). The development of salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*) on artificially infected post smolts of sea trout (*Salmo trutta*). *Canadian journal of zoology*, 76(5), 970-977. <https://doi.org/10.1139/cjz-76-5-970>
- Bonar, S. A., Pauley, G. B., & Thomas, G. L. (1989). *Species Profiles: Life Histories and Environmental Requirements of Coastal Fishes and Invertebrates (Pacific Northwest) Pink Salmon*.
- Braden, L. M., Barker, D. E., Koop, B. F., & Jones, S. R. M. (2012). Comparative defense-associated responses in salmon skin elicited by the ectoparasite *Lepeophtheirus salmonis*. *Comp Biochem Physiol Part D Genomics Proteomics*, 7(2), 100-109. <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2011.12.002>
- Braden, L. M., Barker, D. E., Koop, B. F., & Jones, S. R. M. (2015). Differential modulation of resistance biomarkers in skin of juvenile and mature pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha* by the salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis*. *Fish Shellfish Immunol*, 47(1), 7-14. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.08.008>
- Braden, L. M., Koop, B. F., & Jones, S. R. M. (2015). Signatures of resistance to *Lepeophtheirus salmonis* include a TH2-type response at the louse-salmon interface. *Dev Comp Immunol*, 48(1), 178-191. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2014.09.015>
- Braden, L. M., Monaghan, S. J., & Fast, M. D. (2020). Salmon immunological defence and interplay with the modulatory capabilities of its ectoparasite *Lepeophtheirus salmonis*. *Parasite Immunol*, 42(8), e12731-n/a. <https://doi.org/10.1111/pim.12731>
- Bron, J. E., Sommerville, C., Jones, M., & Rae, G. H. (1991). The settlement and attachment of early stages of the salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae) on the salmon host, *Salmo salar*. *Journal of Zoology*, 224, 201-212. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1991.tb04799.x>
- Bui, S., Oppedal, F., Nola, V., & 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), 697-706. <https://doi.org/10.1111/jfd.13167>
- Burridge, L., Weis, J. S., Cabello, F., Pizarro, J., & Bostick, K. (2010). Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture*, 306(1), 7-23. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.05.020>

- Bush, A. O., Fernández, J. C., Esch, G. W., & Seed, J. R. (2001). *Parasitism : the diversity and ecology of animal parasites*. Cambridge University Press.
- Butterworth, K. G., Cubitt, K. F., & McKinley, R. S. (2008). The prevalence, density and impact of *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer) infestation on juvenile pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) from the central coast of British Columbia, Canada. *Fisheries research*, 91(1), 35-41. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2007.11.018>
- Costello, M. (1993). Review of methods to control sea lice (Caligidae: Crustacea) infestations on salmon (*Salmo salar*) farms. *Pathogens of wild and farmed fish: sea lice*, 219, 252.
- Costello, M. J. (2006). Ecology of sea lice parasitic on farmed and wild fish. *Trends Parasitol*, 22(10), 475-483. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.08.006>
- Costello, M. J. (2009a). The global economic cost of sea lice to the salmonid farming industry. *J Fish Dis*, 32(1), 115-118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2008.01011.x>
- Costello, M. J. (2009b). How sea lice from salmon farms may cause wild salmonid declines in Europe and North America and be a threat to fishes elsewhere. *Proc. R. Soc. B*, 276(1672), 3385-3394. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.0771>
- Dalvin, S., Jørgensen, L. v. G., Kania, P. W., Grotmol, S., Buchmann, K., & Øvergård, A.-C. (2020). Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* skin responses to salmon louse *Lepeophtheirus salmonis*: From copepodid to adult stage. *Fish Shellfish Immunol*, 103, 200-210. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.05.014>
- Dempster, T., Overton, K., Bui, S., Stien, L. H., Oppedal, F., Karlsen, Ø., Coates, A., Phillips, B. L., & Barrett, L. T. (2021). Farmed salmonids drive the abundance, ecology and evolution of parasitic salmon lice in Norway. *Aquaculture Environment Interactions*, 13, 237-248. <https://doi.org/10.3354/aei00402>
- Eichner, C., Hamre, L. A., & Nilsen, F. (2015). Instar growth and molt increments in *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae) chalimus larvae. *Parasitol Int*, 64(1), 86-96. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2014.10.006>
- Esteban, M. Á. (2012). An overview of the immunological defenses in fish skin. ISRN Immunol 2012: 1–29. In.
- Fast, M. D., Ross, N. W., Mustafa, A., Sims, D. E., Johnson, S. C., Conboy, G. A., Speare, D. J., Johnson, G., & Burka, J. F. (2002). Susceptibility of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, Atlantic salmon *Salmo salar* and coho salmon *Oncorhynchus kisutch* to experimental infection with sea lice *Lepeophtheirus salmonis*. *Dis Aquat Organ*, 52(1), 57-68. <https://doi.org/10.3354/dao052057>
- Fields, D. M., Weissburg, M. J., & Browman, H. (2007). Chemoreception in the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis*: an electrophysiology approach. *Dis Aquat Organ*, 78(2), 161-168. <https://doi.org/10.3354/dao01870>
- Finstad, B., Bjørn, P. A., Grimnes, A., & Hvidsten, N. A. (2000). Laboratory and field investigations of salmon lice [*Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer)] infestation on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) post-smolts. *Aquaculture research*, 31(11), 795-803. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00511.x>
- Forskrift om bekjempelse av lakselus i akvakulturanlegg, (2013).
- Fiskeridepartementet, N.-o. (2015). *Forutsigbar og miljømessig bærekraftig vekst i norsk lakse- og ørretoppdrett* (Meld. St. 16 2014-2015). Retrieved from <https://www.regjeringen.no/contentassets/6d27616f18af458aa930f4db9492f5e5/no/pdfs/stm201420150016000dddpdfs.pdf>

- Fiskeridirektoratet. (2022a). *Akvakulturstatistikk; matfiskproduksjon av laks, regnbueørret og ørret*. <https://www.fiskeridir.no/Akvakultur/Tall-og-analyse/Akvakulturstatistikk-tidsserier/Laks-regnbueoerret-og-oerret/Matfiskproduksjon>
- Fiskeridirektoratet. (2022b). *Akvakulturstatistikk; Utsett av rensefisk 1998-2021*.
- Fjelldal, P. G., Hansen, T. J., & Karlsen, Ø. (2020). Effects of laboratory salmon louse infection on osmoregulation, growth and survival in Atlantic salmon. *Conserv Physiol*, 8(1), coaa023-coaa023. <https://doi.org/10.1093/conphys/coaa023>
- Forseth, T., Barlaup, B. T., Finstad, B., Fiske, P., Gjøsæter, H., Falkegård, M., Hindar, A., Mo, T. A., Rikardsen, A. H., Thorstad, E. B., Vøllestad, L. A., & Wennevik, V. (2017). The major threats to Atlantic salmon in Norway. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/icesjms/fsx020>
- Gharbi, K., Matthews, L., Bron, J., Roberts, R., Tinch, A., & Stear, M. (2015). The control of sea lice in Atlantic salmon by selective breeding. *J R Soc Interface*, 12(110), 0574-0574. <https://doi.org/10.1098/rsif.2015.0574>
- Gjelland, K. Ø., & Sandlund, N. O. T. (2012). Pukkellaks *Onchorhynchus gorboscha*. *Artsdatabankens faktaark, nr 283*.
- Gonzalez-Alanis, P., Wright, G. M., Johnson, S. C., & Burka, J. F. (2001). Frontal Filament Morphogenesis in the Salmon Louse *Lepeophtheirus salmonis*. *J Parasitol*, 87(3), 561-574. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2001\)087\[0561:FFMITS\]2.0.CO](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2001)087[0561:FFMITS]2.0.CO)
- 2
- Grimnes, A., & Jakobsen, P. J. (1996). The physiological effects of salmon lice infection on post-smolt of Atlantic salmon. *Journal of fish biology*, 48(6), 1179-1194. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1996.tb01813.x>
- Hamre, L. A., Bui, S., Oppedal, F., Skern-Mauritzen, R., & Dalvin, S. (2019). Development of the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* parasitic stages in temperatures ranging from 3 to 24°C. *Aquaculture Environment Interactions*, 11, 429-443. <https://doi.org/10.3354/aei00320>
- Hamre, L. A., Eichner, C., Caipang, C. M. A., Dalvin, S. T., Bron, J. E., Nilsen, F., Boxshall, G., & Skern-Mauritzen, R. (2013). The Salmon Louse *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae) Life Cycle Has Only Two Chalimus Stages. *PLoS One*, 8(9), e73539-e73539. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073539>
- Hamre, L. A., Glover, K. A., & Nilsen, F. (2009). Establishment and characterisation of salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer 1837)) laboratory strains. *Parasitol Int*, 58(4), 451-460. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2009.08.009>
- Hamre, L. A., & Nilsen, F. (2011). Individual fish tank arrays in studies of *Lepeophtheirus salmonis* and lice loss variability. *Dis Aquat Organ*, 97(1), 47-56. <https://doi.org/10.3354/dao02397>
- Havixbeck, J. J., & Barreda, D. R. (2015). Neutrophil Development, Migration, and Function in Teleost Fish. *Biology (Basel)*, 4(4), 715-734. <https://doi.org/10.3390/biology4040715>
- Heard, W. R. (1991). Life history of pink salmon. *Pacific salmon life histories*, 119-230.
- Heggland, E. I., Dondrup, M., Nilsen, F., & Eichner, C. (2020). Host gill attachment causes blood-feeding by the salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) chalimus larvae and alters parasite development and transcriptome. *Parasit Vectors*, 13(1), 225-218. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04096-0>
- Heuch, P. A., Doall, M. H., & Yen, J. (2007). Water flow around a fish mimic attracts a parasitic and deters a planktonic copepod. *Journal of plankton research*, 29(suppl-1), i3-i16. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbl060>

- 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(11), 805-814. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00512.x>
- Heuch, P. A., Parsons, A., & Boxaspen, K. (1995). Diel vertical migration: A possible host-finding mechanism in salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) copepodids? *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences*, 52(4), 681-689. <https://doi.org/10.1139/f95-069>
- 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., Noble, C., & Gismervik, K. (2017). *Beste praksis for medikamentfrie metoder for lakseluskontroll (MEDFRI)* (Nofima Rapport 2017, Issue 10). <https://nofima.no/publikasjon/1471259/>
- Holm, H., Santi, N., Kjøglum, S., Perisic, N., Skugor, S., & Evensen, Ø. (2015). Difference in skin immune responses to infection with salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) of families selected for resistance and susceptibility. *Fish Shellfish Immunol*, 42(2), 384-394. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.10.038>
- Holm, H. J., Wadsworth, S., Bjelland, A.-K., Krasnov, A., Evensen, O., & Skugor, S. (2016). Dietary phytochemicals modulate skin gene expression profiles and result in reduced lice counts after experimental infection in Atlantic salmon. *Parasit Vectors*, 9(1), 271-271. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1537-y>
- Holm, M., Hoist, J., Hansen, L., Jacobsen, J., O'Maoileidigh, N., & Moore, A. (2003). Migration and distribution of Atlantic salmon post-smolts in the North Sea and North-East Atlantic. *Salmon at the Edge*, 5-23.
- Hordvik, I. (2015). Immunoglobulin isotypes in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Biomolecules*, 5(1), 166-177. <https://doi.org/10.3390/biom5010166>
- Iversen, A., Hermansen, Ø., Nystøyl, R., & Hess, E. J. (2017). Kostnadsutvikling i lakseoppdrett - med fokus på fôr- og lusekostnader. In *Nofima rapportserie 24/2017*.
- Jevne, L. S., & 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), 1573-1586. <https://doi.org/10.1111/jfd.13080>
- Johnson, S., & Albright, L. (1992). Effects of cortisol implants on the susceptibility and the histopathology of the responses of naive coho salmon *Oncorhynchus kisutch* to experimental infection with *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae). *Diseases of aquatic organisms*, 14(3), 195-205.
- Johnson, S. C., & Albright, L. J. (1991). The developmental stages of *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837) (Copepoda: Caligidae). *Revue canadienne de zoologie*, 69(4), 929-950. <https://doi.org/10.1139/z91-138>
- Johnson, S. C., & Albright, L. J. (1992). COMPARATIVE SUSCEPTIBILITY AND HISTOPATHOLOGY OF THE RESPONSE OF NAIVE ATLANTIC, CHINOOK AND COHO SALMON TO EXPERIMENTAL-INFECTION WITH LEPEOPHTHEIRUS-SALMONIS (COPEPODA, CALIGIDAE). *Diseases of aquatic organisms*, 14(3), 179-193. <https://doi.org/10.3354/dao014179>
- Jones, M. W., Sommerville, C., & Bron, J. (1990). The histopathology associated with the juvenile stages of *Lepeophtheirus salmonis* on the Atlantic salmon, *Salmo salar* L.

- Journal of fish diseases*, 13(4), 303-310. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1990.tb00786.x>
- Jones, S., Kim, E., & Bennett, W. (2008). Early development of resistance to the salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer), in juvenile pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum). *J Fish Dis*, 31(8), 591-600. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2008.00933.x>
- Jones, S. R. M., Fast, M. D., Johnson, S. C., & Groman, D. B. (2007). Differential rejection of salmon lice by pink and chum salmon: disease consequences and expression of proinflammatory genes. *Dis Aquat Organ*, 75(3), 229-238. <https://doi.org/10.3354/dao075229>
- Jónsdóttir, H., Bron, J. E., Wootten, R., & Turnbull, J. F. (1992). The histopathology associated with the pre-adult and adult stages of *Lepeophtheirus salmonis* on the Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of fish diseases*, 15(6), 521-527. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1992.tb00684.x>
- Kolstad, K., Heuch, P. A., Gjerde, B., Gjedrem, T., & Salte, R. (2005). Genetic variation in resistance of Atlantic salmon (*Salmo salar*) to the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis*. *Aquaculture*, 247(1), 145-151. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.02.009>
- Krkošek, M., Revie, C. W., Gargan, P. G., Skilbrei, O. T., Finstad, B., & Todd, C. D. (2013). Impact of parasites on salmon recruitment in the Northeast Atlantic Ocean. *Proc. R. Soc. B*, 280(1750), 20122359-20122359. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.2359>
- Kryvi, H., & Poppe, T. (2016). *Fiskeanatomy*. Fagbokforl.
- Ljungfeldt, L. E. R., Quintela, M., Besnier, F., Nilsen, F., & Glover, K. A. (2017). A pedigree-based experiment reveals variation in salinity and thermal tolerance in the salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis*. *Evol Appl*, 10(10), 1007-1019. <https://doi.org/10.1111/eva.12505>
- Mashoof, S., & Criscitiello, M. F. (2016). Fish Immunoglobulins. *Biology (Basel)*, 5(4), 45. <https://doi.org/10.3390/biology5040045>
- Mennerat, A., Hamre, L., Ebert, D., Nilsen, F., DÁVidovÁ, M., & Skorping, A. (2012). Life history and virulence are linked in the ectoparasitic salmon louse *Lepeophtheirus salmonis*. *J Evol Biol*, 25(5), 856-861. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2012.02474.x>
- Moore, J. W., Gordon, J., Carr-Harris, C., Gottesfeld, A. S., Wilson, S. M., & Russell, J. H. (2016). Assessing estuaries as stopover habitats for juvenile Pacific salmon. *Marine ecology. Progress series (Halstenbek)*, 559, 201-215. <https://doi.org/10.3354/meps11933>
- Mordue, A. J., & Birkett, M. A. (2009). review of host finding behaviour in the parasitic sea louse, *Lepeophtheirus salmonis* (Caligidae: Copepoda). *J Fish Dis*, 32(1), 3-13. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2008.01004.x>
- Murphy, K., & Weaver, C. T. (2017). *Janeway's immunobiology* (9th edition. ed.). Garland Science/Taylor & Francis Group.
- Myksvoll, M. S., Sandvik, A. D., Albretsen, J., Asplin, L., Johnsen, I. A., Karlsen, Ø., Kristensen, N. M., Melsom, A., Skardhamar, J., & Ådlandsvik, B. (2018). Evaluation of a national operational salmon lice monitoring system-From physics to fish. *PLoS One*, 13(7), e0201338-e0201338. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201338>
- Niemelä, E., Johansen, N., Zubchenko, A., Dempson, J., Veselov, A., Ieshko, E., Barskaya, Y., Novokhatskaya, O. V., Shulman, B. S., Länsman, M., Hassinen, E., Kuusela, J., Haantie,

- J., Kylmäaho, M., Kivilahti, E., K-M, A., & Kalske, T. H. (2016). *Pink salmon in the Barents region - With special attention to the status in the transboundary rivers Tana and Neiden, rivers in North West Russia and East Canada*. (3).
- Nigam, A. K., Kumari, U., Mittal, S., & Mittal, A. K. (2012). Comparative analysis of innate immune parameters of the skin mucous secretions from certain freshwater teleosts, inhabiting different ecological niches. *Fish Physiol Biochem*, 38(5), 1245-1256. <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9613-5>
- Nilsen, A., Nielsen, K. V., Biering, E., & Bergheim, A. (2017). Effective protection against sea lice during the production of Atlantic salmon in floating enclosures. *Aquaculture*, 466, 41-50. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.009>
- Overton, K., Dempster, T., Oppedal, F., Kristiansen, T. S., Gismervik, K., & Stien, L. H. (2019). Salmon lice treatments and salmon mortality in Norwegian aquaculture: a review. *Reviews in aquaculture*, 11(4), 1398-1417. <https://doi.org/10.1111/raq.12299>
- Peacock, S. J., Krkošek, M., Bateman, A. W., & Lewis, M. A. (2020). Estimation of spatiotemporal transmission dynamics and analysis of management scenarios for sea lice of farmed and wild salmon. *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences*, 77(1), 55-68. <https://doi.org/10.1139/cjfas-2019-0036>
- Pike, A. W., & Wadsworth, S. L. (1999). Sealice on Salmonids: Their Biology and Control. *Advances in Parasitology*, 44, 233-337. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60233-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60233-X)
- Pittman, K., Pittman, A., Karlson, S., Cieplinska, T., Sourd, P., Redmond, K., Ravnøy, B., & Sweetman, E. (2013). Body site matters: an evaluation and application of a novel histological methodology on the quantification of mucous cells in the skin of Atlantic salmon, *Salmo salar*L. *Journal of fish diseases*, 36(2), 115. <https://doi.org/10.1111/jfd.12002>
- Quinn, T. P. (2005). *The behaviour and ecology of Pacific salmon and trout*. UBC Press. WA: American Fisheries Society/University of Washington Press.
- Rasmussen, B. (1961). Stillehavslaks på norskekysten.
- Richardson, R., Metzger, M., Knyphausen, P., Ramezani, T., Slanchev, K., Kraus, C., Schmelzer, E., & Hammerschmidt, M. (2016). Re-epithelialization of cutaneous wounds in adult zebrafish combines mechanisms of wound closure in embryonic and adult mammals. *Development*, 143(12), 2077-2088. <https://doi.org/10.1242/dev.130492>
- Richardson, R., Slanchev, K., Kraus, C., Knyphausen, P., Eming, S., & Hammerschmidt, M. (2013). Adult Zebrafish as a Model System for Cutaneous Wound-Healing Research. *J Invest Dermatol*, 133(6), 1655-1665. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.16>
- Saksida, S. M., Marty, G. D., Jones, S. R. M., Manchester, H. A., Diamond, C. L., Bidulka, J., & St-Hilaire, S. (2012). Parasites and hepatic lesions among pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum), during early seawater residence: Parasites and hepatic lesions in pink salmon. *Journal of fish diseases*, 35(2), 137-151. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01330.x>
- Samsing, F., Oppedal, F., Dalvin, S., Johnsen, I., Vågseth, T., & Dempster, T. (2016). Salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*) development times, body size, and reproductive outputs follow universal models of temperature dependence. *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences*, 73(12), 1841-1851. <https://doi.org/10.1139/cjfas-2016-0050>
- Sandlund, O. T., Berntsen, H. H., Fiske, P., Kuusela, J., Muladal, R., Niemelä, E., Uglem, I., Forseth, T., Mo, T. A., Thorstad, E. B., Veselov, A. E., Vollset, K. W., & Zubchenko, A. V.

- (2019). Pink salmon in Norway: the reluctant invader. *Biological invasions*, 21(4), 1033-1054. <https://doi.org/10.1007/s10530-018-1904-z>
- SkaMik_AS. (2021). *SkaMik 1.5*. <https://skamik.no/skamik15/>
- Skern-Mauritzen, R., Torrissen, O., & Glover, K. A. (2014). Pacific and Atlantic *Lepeophtheirus salmonis* (Kroyer, 1838) are allopatric subspecies: *Lepeophtheirus salmonis salmonis* and *L. salmonis oncorhynchi* subspecies novo. *BMC Genet*, 15(1), 32-32. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-15-32>
- SLRC. (2020). *SLRC - Life cycle of the salmon louse (Lepeophtheirus salmonis)*.
- Sommerset, I., Walde, C. S., Bang, J. B., Wiik-Nielsen, J., Bornø, G., Oliveira, V., Haukaas, A., & Brun, E. (2022). *Fiskehelse rapporten 2021* (41a/2021). Veterinærinstituttet. <https://www.vetinst.no/rappporter-og-publikasjoner/rappporter/2022/fiskehelse rapporten-2021>
- Stephenson, J. F. (2012). The chemical cues of male sea lice *Lepeophtheirus salmonis* encourage others to move between host Atlantic salmon *Salmo salar*. *J Fish Biol*, 81(3), 1118-1123. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2012.03347.x>
- Strøm, J. F., Thorstad, E. B., Hedger, R. D., & Rikardsen, A. H. (2018). Revealing the full ocean migration of individual Atlantic salmon. *Animal biotelemetry*, 6(1), 1-16. <https://doi.org/10.1186/s40317-018-0146-2>
- Sutherland, B. J. G., Koczka, K. W., Yasuike, M., Jantzen, S. G., Yazawa, R., Koop, B. F., & Jones, S. R. M. (2014). Comparative transcriptomics of Atlantic *Salmo salar*, chum *Oncorhynchus keta* and pink salmon *O. gorbuscha* during infections with salmon lice *Lepeophtheirus salmonis*. *BMC Genomics*, 15(1), 200-200. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-200>
- Sveen, L. R., Timmerhaus, G., Krasnov, A., Takle, H., Handeland, S., & Ytteborg, E. (2019). Wound healing in post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Sci Rep*, 9(1), 3565-3565. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39080-x>
- Swain, J. K., Carpio, Y., Johansen, L.-H., Velazquez, J., Hernandez, L., Leal, Y., Kumar, A., Estrada, M. P., & Clegg, S. (2020). Impact of a candidate vaccine on the dynamics of salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*) infestation and immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *PLoS One*, 15(10), e0239827-e0239827. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239827>
- Takle, H. R., Ytteborg, E., Nielsen, K. V., Karlsen, C. R., Nilsen, H. K., Sveen, L., Colquhoun, D. J., Olsen, A. B., Sørum, H., & Nilsen, A. (2015). *Sårproblematikk og hudhelse i laks- og regnbueørretoppdrett*. (Norima Rapportserie, Issue.
- Thorstad, E. B., Forseth, T., & Fiske, P. (2022). *Status for norske laksebestander i 2022* (17). <https://brage.nina.no/nina-xmlui/bitstream/handle/11250/3017420/VRLrapport17.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Todd, C. D., Walker, A. M., Hoyle, J. E., Northcott, S. J., Walker, A. F., & Ritchie, M. G. (2000). Infestations of wild adult Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) by the ectoparasitic copepod sea louse *Lepeophtheirus salmonis* Krøyer; prevalence, intensity and the spatial distribution of males and females on the host fish. *Hydrobiologia*, 429(1-3), 181-196. <https://doi.org/10.1023/a:1004031318505>
- Torrissen, O., Jones, S., Asche, F., Guttormsen, A., Skilbrei, O. T., Nilsen, F., Horsberg, T. E., & Jackson, D. (2013). Salmon lice - impact on wild salmonids and salmon aquaculture. *J Fish Dis*, 36(3), 171-194. <https://doi.org/10.1111/jfd.12061>

- Treasurer, J. W., & Wadsworth, S. L. (2004). Interspecific comparison of experimental and natural routes of *Lepeophtheirus salmonis* and *Caligus elongatus* challenge and consequences for distribution of chalimus on salmonids and therapeutic screening. *Aquaculture research*, 35(8), 773-783. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.1100.x>
- Tucker, C. S., 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(5), 309-320. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2000.00219.x>
- VKM, Hindar, K., Hole, L. R., Kausrud, K., Malmstrøm, M., Rimstad, E., Robertson, L., Sandlund, O. T., Thorstad, E. B., Vollset, K. W., Boer, H. d., Eldegard, K., Järnegren, J., Kirkendall, L., Måren, I., Nielsen, A., Nilsen, E. B., Rueness, E., & Velle, G. (2020). *Assessment of the risk to Norwegian biodiversity and aquaculture from pink salmon (Oncorhynchus gorboscha)*. *Scientific Opinion of the Panel on Alien Organisms and Trade in Endangered Species (CITES)*. (VKM Report, Issue 2020:01). [https://vkm.no/download/18.7b86d0cd16f9471337b515cd/1579076543600/Assessment%20of%20the%20risk%20to%20Norwegian%20biodiversity%20and%20aquaculture%20from%20pink%20salmon%20\(Oncorhynchus%20gorboscha\).pdf](https://vkm.no/download/18.7b86d0cd16f9471337b515cd/1579076543600/Assessment%20of%20the%20risk%20to%20Norwegian%20biodiversity%20and%20aquaculture%20from%20pink%20salmon%20(Oncorhynchus%20gorboscha).pdf)
- Wagner, G. N., Fast, M. D., & Johnson, S. C. (2008). Physiology and immunology of *Lepeophtheirus salmonis* infections of salmonids. *Trends Parasitol*, 24(4), 176-183. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2007.12.010>
- Øvergård, A.-C., Eichner, C., Nuñez-Ortiz, N., Kongshaug, H., Borchel, A., & Dalvin, S. (2023). Transcriptomic and targeted immune transcript analyses confirm localized skin immune responses in Atlantic salmon towards the salmon louse. *Fish Shellfish Immunol*, 138, 108835-108835. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.108835>
- Øvergård, A.-C., Hamre, L. A., Grotmol, S., & Nilsen, F. (2018). Salmon louse rhabdoviruses: Impact on louse development and transcription of selected Atlantic salmon immune genes. *Dev Comp Immunol*, 86, 86-95. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2018.04.023>
- Aaen, S. M., Helgesen, K. O., Bakke, M. J., Kaur, K., & Horsberg, T. E. (2015). Drug resistance in sea lice: a threat to salmonid aquaculture. *Trends Parasitol*, 31(2), 72-81. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.12.006>

7 Appendiks

7.1 Appendiks A – Vekt og lengde

7.1.1 Innledende forsøk

Tabell 1A: Lengde og vekt av 12 Atlantisk laks i innledende forsøk.

Atlantisk laks			
Tank	Fisk nr.	Lengde (cm)	Vekt (g)
4	1	31,5	364
4	2	34,7	479
4	3	29,5	297
4	4	32,1	378
4	5	34	457
4	6	30,8	327
4	7	32,8	405
4	8	31,7	360
4	9	35,4	542
4	10	33,4	450
4	11	33,2	430
4	12	33,2	419

Tabell 2A: Gjennomsnittlig lengde og vekt med STDAV av 12 Atlantisk laks i innledende forsøk.

Gjennomsnittlig lengde og vekt				
Fisk	Gj.snitt lengde (cm)	STDAV	Gj.snitt vekt (g)	STDAV
Atlantisk laks (tank 4)	32,7	1,7	409,0	68,6

7.1.2 Hovedforsøk

Tabell 3A: Gjennomsnittlig lengde og vekt av 29 pukkellaks i tank 1 og 36 atlantisk laks likt fordelt i tank 2-4 i hovedforsøk.

Gjennomsnittlig lengde og vekt				
Fisk	Gj.snitt lengde (cm)	STDAV	Gj.snitt vekt (g)	STDAV
Pukkellaks (tank 1)	27,2	3,2	206,5	72,9
Atlantisk laks (tank 2, 3 and 4)	33,9	2,1	451,5	94,3
Atlantisk laks (tank 2)	33,6	2,1	454,8	88,5
Atlantisk laks (tank 3)	34,1	2,3	460,6	107,2
Atlantisk laks (tank 4)	33,8	1,9	439,0	82,8

Tabell 4A: Lengde og vekt av 29 pukkellaks i tank 1.

Pukkellaks			
Tank	Fisk nr.	Lengde (cm)	Vekt (g)
1	1	26,3	169,1
1	2	23,0	123,6
1	3	25,7	157,8
1	4	25,0	157,9
1	5	28,5	272,0
1	6	20,5	61,4
1	7	20,5	82,1
1	8	23,0	113,8
1	9	28,7	228,7
1	10	28,5	234,7
1	11	30,8	314,2
1	12	30,5	301,0
1	13	31,5	297,8
1	14	27,6	183,1
1	15	23,2	119,4
1	16	31,3	281,5
1	17	23,5	122,2
1	18	29,0	212,1
1	19	29,4	257,4
1	20	27,7	201,5
1	21	24,3	136,1
1	22	30,4	321,7
1	23	30,1	293,3
1	24	30,2	269,6

1	25	28,0	216,6
1	26	29,4	240,3
1	27	26,7	177,1
1	28	26,2	207,1
1	29	28,5	236,4

Tabell 5A: Lengde og vekt av 12 atlantisk laks i tank 2

Atlantisk laks			
Tank	Fisk nr.	Lengde (cm)	Vekt (g)
2	1	31,0	411,0
2	2	34,2	467,0
2	3	35,2	486,5
2	4	36,3	589,3
2	5	35,2	526,8
2	6	33,2	459,0
2	7	35,7	541,6
2	8	33,7	421,9
2	9	32,8	374,7
2	10	34,2	510,4
2	11	29,0	254,8
2	12	33,2	415,0

Tabell 6A: Lengde og vekt av 12 Atlantisk laks i tank 3.

Atlantisk laks			
Tank	Fisk nr.	Lengde (cm)	Vekt (g)
3	1	37,2	647,3
3	2	35,4	509,5
3	3	34,5	461,1
3	4	32,2	380,1
3	5	34,5	441,5
3	6	36,2	573,3
3	7	34,2	417,2
3	8	35,6	538,0
3	9	29,3	278,7
3	10	30,9	312,9
3	11	36,0	538,0
3	12	33,7	429,7

Tabell 7A: Lengde og vekt av 12 atlantisk laks i tank 4

Atlantisk laks			
Tank	Fisk nr.	Lengde (cm)	Vekt (g)
4	1	33,6	436,0
4	2	34,6	430,2
4	3	32,5	383,6
4	4	36,9	580,7
4	5	35,0	485,1
4	6	32,7	388,4
4	7	34,5	479,4
4	8	36,2	562,1
4	9	33,7	465,7
4	10	31,8	355,0
4	11	30,2	290,3
4	12	33,4	411,3

7.2 Appendiks B – Punkter for lakselus festet til Pukkellaks og Atlantisk laks

7.2.1 Innledende forsøk

Tabell 1B: *Distribusjon av antall (n) L. salmonis hos 12 Atlantisk laks i tank 4.*

Distribusjon av <i>Lepeophtheirus salmonis</i> på infisert Atlantisk laks – tank 4				
DPI	Fisk nr.	N lus kropp	n lus finner	Totalt n lus/fisk
18	1	3	26	29
	2	3	22	25
	3	0	12	12
	4	1	16	17
	5	5	13	18
	6	2	13	15
	7	6	25	31
	8	2	18	20
	9	1	21	22
	10	1	15	16
	11	12	25	37
	12	5	24	29
Totalt antall lus		41	230	271

7.2.2 Hovedforsøk

Tabell 2B. Distribusjon av antall (n) *L. salmonis* hos 29 pukkellaks i tank 1. Fiskens kroppsoverflate er inndelt i 6 deler; kropp (BO), dorsalfinne (DO), pektoralfinne (PC), bukfinner (PL), analfinne (AN) og caudalfinne (CA).

Distribusjon av <i>Lepeophtheirus salmonis</i> på infisert Pukkellaks – tank 1								
DPI	Fisk nr.	BO	DO	PC	PL	AN	CA	Totalt antall
4	1	1	-	-	1	-	-	2
	2	-	-	5	2	2	-	9
	3	-	-	-	-	-	-	0
5	4	-	1	-	1	1	-	3
	5	1	2	1	2	1	-	7
	6	-	2	-	-	-	-	2
6	7	-	7	6	10	3	4	30
	8	-	4	1	1	-	-	6
	9	-	2	2	3	-	-	7
8	10	-	6	1		1	1	9
	11	-	-	1	3	-	-	4
	12	-	-	-		-	-	0
10	13	-	-	-	1	1	-	2
	14	-	-	-	-	-	-	0
	15	-	-	-	-	-	1	1
12	16	-	-	-	-	1	1	2
	17	-	-	-	-	-	1	1
	18	-	-	-	-	-	-	0
14	19	-	-	-	-	-	-	0
	20	-	-	-	-	-	-	0
	21	-	-	-	-	-	-	0
17	22	-	1	-	-	-	-	1
	23	-	-	-	-	-	-	0
	24	-	-	-	-	-	-	0
	25	-	-	-	-	-	-	0
18	26	-	-	-	-	-	-	0
	27	-	-	-	-	-	-	0
	28	-	-	-	-	-	-	0
	29	-	-	-	-	-	-	0
Totalt antall		2	26	17	24	10	8	86

Tabell 3B. Distribusjon av antall *Lepeophtheirus Salmonis* hos 12 Atlantisk laks i tank 2. Fiskens kroppsoverflate er inndelt i 8 deler; kropp (BO), dorsalfinne (DO), pektoralfinne (PC), bukfinner (PL), analfinne (AN) og caudalfinne (CA).

Distribusjon av <i>Lepeophtheirus salmonis</i> på infisert Atlantisk laks – tank 2								
DPI	Fisk nr.	BO	DO	PC	PL	AN	CA	Totalt antall
18	1	9	6	10	3	-	1	29
	2	6	7	6	2	2	3	26
	3	15	1	9		1	3	29
	4	11	9	5	2	1	5	33
	5	7	4	3	2	-	4	20
	6	6	1	2	2	-	4	15
	7	8	4	2	1	2	2	19
	8	18	4	4	1	-	3	30
	9	17	7	11	4	-	3	42
	10	9	4	2	1	2	6	24
	11	6	3	4	1	-	3	17
	12	7	3	8	2	-	2	22
Totalt antall		119	53	66	21	8	39	306

Tabell 4B. Distribusjon av antall *Lepeophtheirus Salmonis* hos 12 Atlantisk laks i tank 3. Fiskens kroppsoverflate er inndelt i 8 deler; kropp (BO), dorsalfinne (DO), pektoralfinne (PC), bukfinner (PL), analfinne (AN) og caudalfinne (CA).

Distribusjon av <i>Lepeophtheirus salmonis</i> på infisert Atlantisk laks – tank 3								
DPI	Fisk nr.	BO	DO	PC	PL	AN	CA	Totalt antall
19	1	11	4	5	1	1	1	23
	2	5	4	3	-	1	2	15
	3	11	5	4	3	1	3	27
	4	7	4	7	2	1	4	25
	5	7	-	3	-	-	1	11
	6	18	4	4	-	1	6	33
	7	8	6	2	1	2	9	28
	8	18	7	6	-	-	5	36
	9	10	2	5	-	-	2	19
	10	7	1	2	3	-	1	14
	11	8	5	6	1	-	4	24
	12	11	4	3	-	2	4	24
Totalt antall		121	46	50	11	9	42	279

Tabell 5B. Distribusjon av antall *Lepeophtheirus Salmonis* hos 12 Atlantisk laks i tank 4. Fiskens kroppsoverflate er inndelt i 8 deler; kropp (BO), dorsalfinne (DO), pektoralfinne (PC), bukfinner (PL), analfinne (AN) og caudalfinne (CA).

Distribusjon av <i>Lepeophtheirus salmonis</i> på infisert Atlantisk laks – tank 4								
DPI	Fisk nr.	BO	DO	PC	PL	AN	CA	Totalt antall
20	1	9	3	5	-	-	1	18
	2	6	4	6	1	1	4	22
	3	7	-	3	-	-	2	12
	4	7	2	5	-	-	3	17
	5	11	1	4	3	-	2	21
	6	5	-	6	-	-	2	13
	7	7	1	3	-	1	3	15
	8	10	1	5	1	-	3	20
	9	12	3	6	3	3	2	29
	10	8	2	2	1	-	1	14
	11	3	2	3	1	-	2	11
	12	4	3	2	1	2	4	16
Totalt antall		89	22	50	11	7	29	208

Tabell 6B. Distribusjon av antall *Lepeophtheirus salmonis* hos 8 Atlantisk laks. Fiskens kroppsoverflate er inndelt i 8 deler; kropp (BO), dorsalfinne (DO), pektoralfinne (PC), bukfinner (PL), analfinne (AN) og caudalfinne (CA).

Distribusjon av <i>Lepeophtheirus salmonis</i> på infisert Atlantisk laks – ekstra forsøk								
DPI	Fisk nr.	BO	DO	PC	PL	AN	CA	Totalt antall
4	1	-	22	15	1	2	3	40
	2	1	15	8	2	-	8	26
	3	16	16	7	3	1	8	43
	4	2	17	8	1	4	3	32
6	5	2	33	13	1	1	1	50
	6	4	14	12	3	5	1	38
	7	9	19	16	7	2	7	53
	8	4	39	11	2	1	6	57
Totalt antall		38	175	90	20	16	37	339

Tabell 7B. Distribusjon (antall og prosent) av *Lepeophtheirus salmonis* fordelt på dorsalfinne (DO), pektoralfinne (PC), bukfinner (PL), analfinne (AN) og caudalfinne (CA), anterior back (AB), posterior back (PA), anterior abdomen (AA) og posterior abdomen (PA)..

Lus finner og kropp								
Område	Tank 1		Tank 2		Tank 3		Tank 4	
	Antall	%	Antall	%	Antall	%	Antall	%
DO	25	29,1 %	53	17,3 %	46	16,5 %	22	10,6 %
PC	17	19,8 %	66	21,6 %	50	17,9 %	50	24,0 %
PL	24	27,9 %	21	6,9 %	11	3,9 %	11	5,3 %
AN	10	11,6 %	8	2,6 %	9	3,2 %	7	3,4 %
CA	8	9,3 %	39	12,7 %	42	15,1 %	29	13,9 %
AB	1	1,2 %	15	4,9 %	18	6,5 %	18	8,7 %
PB	0	0,0 %	27	8,8 %	23	8,2 %	16	7,7 %
AA	0	0,0 %	41	13,4 %	40	14,3 %	27	13,0 %
PA	1	1,2 %	36	11,8 %	40	14,3 %	28	13,5 %
Total	86	100,0 %	306	100,0 %	279	100,0 %	208	100,0 %

7.3 Appendiks C – Stadielinndeling av lakselus funnet på fisk

7.3.1 Pukkellaks

Tabell 1C: Stadielinndeling (kopepoditt (kope) og chalimus I (Ch I) i tank 1. Histologiske prøver med lus er inkludert i antall lus per fisk, men er ikke stadietestet.

Tank 1 - stadie og histologiske prøver					
DPI	Fisk nr.	Kope	Ch I	Histo	Antall lus/fisk
4	1	0	0	2	2
	2	8	0	1	9
	3	0	0	0	0
5	4	2	0	1	3
	5	6	0	1	7
	6	1	0	1	2
6	7	29	0	1	30
	8	5	0	1	6
	9	6	0	1	7
8	10	1	7	1	9
	11	2	1	1	4
	12	0	0	0	0
10	13	0	1	1	2
	14	0	0	0	0
	15	0	0	1	1
12	16	0	0	2	2
	17	0	0	1	1
	18	0	0	0	0
14	19	0	0	0	0
	20	0	0	0	0
	21	0	0	0	0
17	22	0	0	1	1
	23	0	0	0	0
	24	0	0	0	0
	25	0	0	0	0
18	26	0	0	0	0
	27	0	0	0	0
	28	0	0	0	0
	29	0	0	0	0
Total		60	9	17	86

7.3.2 Atlantisk laks

Tabell 2C: Stadielinndeling (chalimus I (Ch I), chalimus II (Ch II) og preadult) av *L. Salmonis* hos Atlantisk laks i tank 2, tank 3 og tank 4.

Stadieinndeling									
Fisk nr.	Ch I			Ch II			Preadult		
	Tank 2	Tank 3	Tank 4	Tank 2	Tank 3	Tank 4	Tank 2	Tank 3	Tank 4
1	0	0	0	28	21	15	0	0	1
2	0	0	0	25	15	19	0	0	1
3	0	0	0	28	25	9	0	0	1
4	0	0	0	32	25	14	0	0	1
5	0	0	0	19	9	17	0	0	2
6	1	1	0	12	32	10	0	0	3
7	0	0	1	19	26	14	0	0	0
8	0	0	0	28	36	16	0	0	4
9	0	0	0	42	17	25	0	0	4
10	0	0	0	22	14	12	0	0	2
11	1	1	0	16	23	9	0	0	2
12	0	0	0	22	23	10	0	1	6

7.4 Appendiks D – Filterdata

7.4.1 Filterdata

Tabell 1D: Tidspunkt for smitte av pukkellaks med lakselus i tank 1, overføring av avløpsvann fra tank 1 til tank 2-4, aktivt filter, antall (n) lakselus funnet i filter og antall (n) pukkellaks i tank 1 (* = smitte med 5600 kopepoditter på 29 pukkellaks i tank 1, ** = her legges n lus til grunnlag at fisk i tank 2-4 hadde en smittesuksess på 37,6%, *** = fôring og mye grums i filter, **** = filter var inaktivt grunnet fôring).

Start filter	Stopp filter	DPI	Tid filter (t)	n lus	n fisk
04.11.2022 09:00	04.11.2022 09:55	0,04	0,92	*	29
04.11.2022 09:55	04.11.2022 10:05	0,05	0,17	72	29
04.11.2022 10:05	04.11.2022 10:18	0,05	0,22	136	29
04.11.2022 10:18	04.11.2022 10:28	0,06	0,17	114	29
04.11.2022 10:28	04.11.2022 10:38	0,07	0,17	99	29
04.11.2022 10:38	04.11.2022 10:48	0,07	0,17	58	29
04.11.2022 10:48	04.11.2022 10:58	0,08	0,17	60	29
04.11.2022 10:58	04.11.2022 11:08	0,09	0,17	58	29
04.11.2022 11:08	04.11.2022 11:18	0,10	0,17	43	29
04.11.2022 11:18	04.11.2022 11:38	0,11	0,33	64	29
04.11.2022 11:38	04.11.2022 11:58	0,12	0,33	43	29
04.11.2022 11:58	04.11.2022 12:18	0,14	0,33	42	29
04.11.2022 12:18	04.11.2022 12:38	0,15	0,33	41	29
04.11.2022 12:38	04.11.2022 12:58	0,17	0,33	67	29
04.11.2022 12:58	04.11.2022 13:28	0,19	0,50	57	29
04.11.2022 13:28	04.11.2022 13:58	0,21	0,50	49	29
04.11.2022 13:58	04.11.2022 14:28	0,23	0,50	51	29
04.11.2022 14:28	04.11.2022 14:58	0,25	0,50	52	29
04.11.2022 14:58	04.11.2022 15:28	0,27	0,50	34	29
04.11.2022 15:28	04.11.2022 15:58	0,29	0,50	48	29
04.11.2022 15:58	05.11.2022 08:55	1,00	16,95	664	29
05.11.2022 08:55	06.11.2022 09:00	2,00	24,08	817**	29
06.11.2022 08:55	07.11.2022 09:00	3,00	24,08	747**	29
07.11.2022 08:55	08.11.2022 09:00	4,00	24,08	552**	29
08.11.2022 09:00	08.11.2022 12:30	4,15	3,50	7***	26
08.11.2022 12:30	08.11.2022 15:45	4,28	3,25	53	26
08.11.2022 15:45	09.11.2022 08:00	4,96	16,25	171	26
09.11.2022 08:00	09.11.2022 09:00	5,00	1,00	16	26
09.11.2022 09:00	09.11.2022 17:15	5,34	8,25	96	23
09.11.2022 17:15	10.11.2022 10:30	6,06	17,25	181	23

10.11.2022 10:30	10.11.2022 11:03	6,09	0,55	****	20
10.11.2022 11:03	10.11.2022 15:15	6,26	4,20	44	20
10.11.2022 15:15	11.11.2022 09:21	7,01	18,10	166	20
11.11.2022 09:21	11.11.2022 10:51	7,08	1,50	****	20
11.11.2022 10:51	11.11.2022 15:15	7,26	4,40	43	20
11.11.2022 15:15	12.11.2022 10:00	8,04	18,75	123	20
12.11.2022 10:00	12.11.2022 11:15	8,09	1,25	0	20
12.11.2022 11:15	13.11.2022 09:15	9,01	22,00	57	17
13.11.2022 12:00	14.11.2022 09:50	10,03	21,83	12	17
14.11.2022 10:15	15.11.2022 09:35	11,02	23,33	30	14
15.11.2022 09:35	15.11.2022 13:50	11,20	4,25	****	14
15.11.2022 13:50	16.11.2022 09:05	12,00	19,25	12	14
16.11.2022 09:05	16.11.2022 10:10	12,05	1,08	****	11
16.11.2022 10:10	17.11.2022 10:20	13,06	24,17	3	11
17.11.2022 10:20	17.11.2022 20:15	13,47	9,92	****	11
17.11.2022 20:15	18.11.2022 10:15	14,05	14,00	4	11
18.11.2022 10:15	18.11.2022 13:45	14,20	3,50	****	8
18.11.2022 13:45	19.11.2022 09:50	15,03	20,08	0	8

7.4.2 Utregning som ligger til grunn for figur 15 og figur 16.

I tabell 2D, 3D og 4D legges til grunn for figur 15 og figur 16 som ble konstruert i Excel.

Gjenværende lakselus i tank 1 er vist i figur 15. Antall lakselus som hver fisk taper hver time.

I tank 2-4 er det lagt til grunn en forventet smittesuksess på 37,6% (som utregnet ved pilotforsøk) og mean abundance utregnet for funn av lakselus i tank 2-4.

Tabell 2D: Forventet lakselusnivå i mottakertanker.

	Forventet kopepodittap per fisk per time levert til mottakertank	Totalt forventet tap	Forventet infeksjon 37,6%
Tank 2 (1-2 dpi)	1,2	835	25,3
Tank 3 (2-3 dpi)	1,1	626	19,0
Tank 4 (3-4 dpi)	0,8	418	12,6

Tabell 3D: Kalkulert totaltap basert på mean abundance på mottakerfisk.

	Mean abundance	Total lus	Kopepoditter mottatt hvis 37,6% infeksjonssuksess
Tank 2 (1-2 dpi)	25,5	306	814,0
Tank 3 (2-3 dpi)	23,3	279,6	743,7
Tank 4 (3-4 dpi)	17,3	207,6	552,2

Tabell 4D: Estimert kopepodittap per giverfisk per time basert på mean abundance hos mottakerfisk.

Estimert *L. salmonis* tap basert på mean abundance i mottakertank hvis 37,6% infeksjonssuksess.

	Mean abundance	Total lus	Estimert <i>L. salmonis</i> tap hvis 37,6% infeksjonssuksess
Tank 2 (1-2 dpi)	25,5	306	1,17
Tank 3 (2-3 dpi)	23,3	279,6	1,07
Tank 4 (3-4 dpi)	17,3	207,6	0,79

7.5 Appendiks E – Histologisk prosedyre

Histologisk prosedyre

Dehydrering:

Bruk en tidsplan for å øke alkoholkonsentrasjonen ved romtemperatur som følger

- Grunnmedium (PBS)
- 70 % etanol i 15 minutter på is (eller 50 % etanol over natten)
- 96 % etanol i 15 minutter i romtemperatur
- 96 % etanol i 15 minutter i romtemperatur

Infiltrasjon:

Infiltrasjonsløsning: bland 100 ml Technovit 7100-harpiks og 1 g Hardener I (benzoylperoksid). Bland med en magnetrører til benzoylperoksidet er fullstendig oppløst. Oppbevares ved 4 °C i en mørk flaske i opptil to måneder.

- Infiltrer i en 50/50 blanding av 100 % etanol og infiltrasjonsløsning i to-fire timer.
- La prøven stå i 100 % infiltrasjonsløsning over natten. Infiltrasjon med mild agitasjon vil være mer fullstendig og større prøver bør ha flere infiltrasjonstrinn over lengre tid.

Innstøpning:

Innstøpningsløsning: bland 15 deler infiltrerende løsning og 1 del Hardener II. Bland godt.

Bruk løsningen innen 10 minutter før polymerisering skjer.