

Eirin Marie Olaussen Espås

Atferdsresponser på lys og saliniteter hos preadulte og voksne lakselus (*Lepeoptheirus salmonis*)

Masteroppgave i Ocean Resources

Veileder: Cecilie Miljeteig

Medveileder: Anna S. Båtnes, Maja Hatlebakk og Bengt Finstad

Juni 2024



Havforskningsinstituttet

Eirin Marie Olaussen Espås

**Atferdsresponser på lys og saliniteter
hos preadulte og voksne lakselus
(*Lepeoptheirus salmonis*)**

Masteroppgave i Ocean Resources

Veileder: Cecilie Miljeteig

Medveileder: Anna S. Båtnes, Maja Hatlebakk og Bengt Finstad

Juni 2024

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet

Fakultet for naturvitenskap

Institutt for biologi



NTNU

Kunnskap for en bedre verden

Sammendrag

Lakselus (*Lepeoptheirus salmonis*) er marine ektoparasitter som parasitterer salmonider som blant annet Atlantisk laks (*Salmo salar*). Lakselus anses i dag som en av oppdrettsnæringens største utfordringer for fiskehelse og velferd, og kostnadene av lusehåndtering og forebygging øker. Per i dag avluses mye av fisken med metoder som krever håndtering, blant annet trenging. Under trenging faller bevegelige lakselus av fisken og tilbake i vannmassene, og det spekuleres i om disse kan utgjøre en trussel for fisk i nærliggende områder.

Per dags dato finnes det ikke mange studier som tar for seg hva som skjer med bevegelige lakselus som faller av under trenging. Ettersom det meste av forskning er gjort på planktoniske stadier, vet vi svært lite om hvordan parasittiske stadier av lakselus uten vert, responderer på ulike miljøfaktorer som lave saliniteter og lys. For å undersøke dette, ble to laboratorieforsøk gjennomført (ett på salinitetsrespons og ett på lysrespons) på preadulte og voksne stadier av lakselus.

Preadult 2 hunn, voksne hanner og voksne hunner ble alle limt opp i en tråd og utsatt for 12 ulike kombinasjoner av lystimuli bestående av ulike farger (rød, blå, grønn), intensiteter (lav, høy) og pulseringer (konstant, blinkende) i lysforsøkene. Voksne hunner og preadult 2 hunn hadde en signifikant økning i antall svømmeperioder med lystimuli som har gjort det mulig å anta at disse reagerte på lys. Voksne hanner derimot hadde ingen signifikant respons. Det tyder på at voksne hunner og preadult 2 hunner bruker lyset aktivt til å eventuelt finne en vert, slik som antatt for copepoditter som hadde lignende respons i tidligere studier. Varigheten på svømmeperiodene så ut til å øke med lysforhold tilsvarende dypere vannmasser hos voksne stadier av lakselus, men minker for preadult 2 hunn. Det tyder på at lakselus bruker lys til å navigere i vannmassene.

Under forsøkene på salinitetsrespons ble preadult 1 hunn/preadult 2 hann, preadult 2 hunn, voksne hanner og voksne hunner utsatt for brakkevannslag av ulike saliniteter (25 ppt, 20 ppt, 15 ppt, 10 ppt og 5 ppt). En kontrollgruppe ble kjørt hvor både det nedre og øvre laget bestod av saltvann på 32 ppt. Voksne hunnlus ga ingen svømmeaktivitet oppover i oppsettet og ingen konklusjon rundt svømmeadferd kan dras. For voksne hanner, preadult 1 hunn/preadult 2 hann og preadult 2 hunn tydet resultatene på at de ikke unngår lave saliniteter selv om valget blir gitt, men grunnet utfordringer rundt forsøksdesign kan ingen konklusjoner rundt adferd dras.

Abstract

Salmon lice (*Lepeoptheirus salmonis*) are marine ectoparasites that infest salmonids such as Atlantic salmon (*Salmo salar*). Today, salmon lice are considered one of the aquaculture industry's largest challenges for fish health and welfare, and the cost of lice management and prevention are increasing. Currently, a lot of the fish is deloused using methods that require handling, including crowding. During crowding, mobile salmon lice detach from the fish and fall back into the water. It's speculated that these could pose a threat to fish in nearby areas.

To date, there are few studies that examine what happens to mobile salmon lice that end up back in the water masses. Since most research has been done on planktonic stages, we know very little about how parasitic stages of salmon lice without a host respond to various environmental factors such as low salinities and light. To investigate this, two laboratory experiments were conducted (one on salinity response and one on light response) on pre-adult and adult stages of salmon lice.

Pre-adult 2 females, adult males and adult females were all attached to a thread and exposed to 12 different combinations of light stimuli consisting of various colors (red, blue and green), intensities (low and high) and pulsations (constant and flashing) in the light experiments. Adult females and pre-adult 2 females showed a significant increase in the number of swimming periods with light stimuli, suggesting that they respond to light. Adult males, on the other hand showed no significant response. This suggests that adult and pre-adult 2 females actively use light to potentially find a host, as assumed for copepodites that show similar responses in previous studies. The duration of swimming periods appears to increase with light conditions corresponding to deeper water masses for adult stages of salmon louse but decreases for pre-adult 2. This indicates that salmon lice use light to navigate the water masses.

During the salinity response experiments, pre-adult 1 female/pre-adult 2 male, pre-adult 2 female, and adult males and adult females were exposed to brackish water layers of various salinities (25 ppt, 20 ppt, 15 ppt, 10 ppt and 5 ppt). A control group was run where both the lower and upper layer consisted of saltwater at 32 ppt. Adult female lice showed no swimming activity upwards in the experimental setup, and no conclusion regarding swimming behavior can be drawn. For adult males, pre-adult 1 females/pre-adult 2 males, and pre-adult 2 females, the results suggest that they don't avoid low salinities even when given the chance, but due to challenges with the experimental design, no conclusions about behavior can be drawn.

Forord

Først og fremst vil jeg gjerne takke min hovedveileder Cecilie Miljeteig, og co-veiledere Anna S. Båtnes, Maja Hatlebakk og Bengt Finstad for deres hjelp, støtte og veiledning gjennom hele masteroppgaven. Jeg setter umåtelig stor pris på deres tålmodighet, forståelse og tilbakemelding underveis i prosessen. I tillegg vil jeg takke alle som har deltatt i prosessen med å lage forsøksdesignet, Dag Altin, Lisa Obrestad og Bjørn Richard Prestbakk. Jeg setter utrolig stor pris på all hjelp jeg har fått av dere både med det praktiske oppsettet og alle kreative ideer. Jeg vil gjerne utrette en spesielt stor takk til Dag Altin som alltid har en god løsning på praktiske problemer, og som alltid har stilt opp under lab forsøkene mine.

Min masteroppgave var en del av prosjektet Taskforce lakselus. Prosjektet er finansiert av NTNU, Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfinansiering samt de følgende oppdrettsselskapene: Salmar, SalmoNor, Lerøy Midt, Måsøval Fiskeoppdrett AS, Emilsen Fisk AS, MOWI, Midt-Norsk Havbruk AS, Refsnes Laks AS, Erviks Laks og Ørret, AQS, SinkabergHansen, Åkerblå og AquaKompetanse AS. Jeg vil rette en stor takk til alle dere for å ha finansiert min masteroppgave.

Til slutt ønsker jeg å takke min familie, venner og medstudenter for alle støttende ord og gode samtaler gjennom året som har gått.

Innhold

Figurer.....	xi
Tabeller	xii
Forkortelser/symboler.....	xiii
1 Introduksjon.....	14
1.1 Bakgrunn.....	14
1.2 Lakselus	14
1.2.1 Livssyklus og utvikling	15
1.3 Kontroll av lakselusebestanden.....	16
1.4 Adferdsresponer på lystimuli	18
1.5 Overlevelse og adferdsresponser knyttet til lave saliniteter.....	19
1.6 Hensikt.....	19
2 Materialer og metoder.....	20
2.1 Lusekulturene på Sealab Brattøra	20
2.2 Bedøvelse av laks og uttak av lus til forsøk	20
2.3 Lysforsøket.....	20
2.3.1 Eksperimentelt design.....	20
2.3.2 Eksperimentelt oppsett.....	21
2.3.3 Oppheng av lakselus.....	22
2.3.4 Eksperimentell prosedyre	23
2.3.5 Videoanalyse	24
2.4 Salinitetsresponser og synkehastighet	25
2.4.1 Eksperimentelt design.....	25
2.4.2 Eksperimentelt oppsett.....	25
2.4.3 Eksperimentell prosedyre	28
2.4.4 Videoanalyse	29
2.5 Dataanalyse.....	29
2.5.1 Analyse av data for lysrespons	29
2.5.2 Analyse av data for respons på saliniteter	29
2.6 Statistisk analyse.....	30
2.6.1 Lysrespons	30
3 Resultater	31
3.1 Lysrespons hos lakselus.....	31
3.1.1 Eksempler på grafisk fremstilling av bevegelse	31
3.1.2 Antall svømmeperioder med og uten stimuli.....	32
3.1.3 Tid i aktivitet for mørke og ulike kombinasjoner av stimuli	35

3.1.4	Varighet svømmeperioder for mørke og ulike kombinasjoner av stimuli.....	37
3.2	Salinitetsrespons hos lakselus	40
3.2.1	Andel individer som beveger seg over haloklin.....	40
3.2.2	Antall hopp over haloklin	41
3.2.3	Tid brukt i brakkvannslaget.....	42
3.3	Synkehastighet	44
4	Diskusjon	45
4.1	Lysrespons hos lakselus.....	45
4.1.1	Antall svømmeperioder med og uten stimuli.....	45
4.1.2	Tid i aktivitet i aktivitet og med ulike kombinasjoner av lysstimuli.....	47
4.1.3	Varighet for svømmeperioder i mørke og med ulike kombinasjoner av lysstimuli.....	47
4.1.4	Temperaturen under utføringen av forsøket	47
4.2	Salinitetsrespons hos lakselus	48
4.2.1	Andel individer som beveger seg over haloklin	48
4.2.2	Antall hopp over haloklin	49
4.2.3	Tid brukt i brakkvannslaget.....	50
4.3	Synkehastighet	50
5	Konklusjon	51
	Referanser	52
	Vedlegg A	57
	Vedlegg B	58
	Vedlegg C	60
	Vedlegg D	64

Figurer

Figur 1.1: Livssyklusen til <i>L.salmonis</i> . Livssyklusen deles inn i 8 stadier med tre frittlevende stadier (nauplie I, nauplie II og copepoditt) og 5 parasittiske stadier (chalimus I, chalimus II, preadult I, preadult II og voksne) (Sea Lice Research Centre, 2020).....	15
Figur 1.2: Oversikt over de ulike produksjonsområdene i Norge, samt hvilke farger de hadde i trafikklyssystemet per 03.24. (Regjeringen, 2024)	17
Figur 2.1: Skjematisk figur (A) og bilde (B) over forsøksoppsettet brukt til å utføre lysforsøkene. Det eksperimentelle oppsettet bestod av et akvarium (1), oppheng konstruert av mosgummi (2), modullhulle (3), Arduino lyskilde (4), infrarøde lyskastere (5) og et GoProkamera (6).....	22
Figur 2.2: Bilde av voksen hunn lus som blir limt fast i sytråd. Her på baksiden av et veieskip.....	23
Figur 2.3: Et eksempel på graf fra Python som plottet bevegelse til hver enkelt lus mot bildene i videoen.	25
Figur 2.4: Skjematisk figur (A) og bilde av oppsettet (B) brukt i forsøkene med ulike saliniteter. Oppsettet bestod av et glass akvarium (1), et Sony kamera (2), modullhulle (3), Arduino lyskilde (4) og infrarøde lyskastere (5). Kamera ble plassert i sentrum foran oppsettet og er ikke synlig på bilde.	26
Figur 2.5: Skjematisk figur (A) og bilde (B) av glassrøret med plastskiven som ble laget for å fylle brakkvannslag oppå saltvann. En plastslange (1) ble festet i et glassrør (2) og en rund plastskive (3) festet med knappnåler (4).	27
Figur 2.6: Bilde fra testen gjort med konditorfarge. Den gule linjen markerer hvor det røde vannet begynner og dermed også brakkvannlaget.....	27
Figur 3.1: Grafisk fremstilling av bevegelsen (hastighet plottet mot bildenummer) til 3 enkelt individ, 1 voksen hunn lus (grønn), 1 voksen hann lus (rosa) og 1 preadult 2 hunn (oransje) utsatt for stimuli (Grønn, Høy intensitet, Blinkende) angitt som det blå feltet. X-aksen representerer enkeltbilder fra video og 14000 bilder tilsvarer 467 sekunder. Y-aksen viser relativ hastigheten per bilde.....	31
Figur 3.2: Boksplott av antall svømmeperioder (mørkeperiode og med stimuli) ved ulike kombinasjoner av stimuli for voksne hunner. Median (strek), gjennomsnitt (X) og stimuli som oppnådde signifikant forskjell (stjerne) er angitt i grafen.	32
Figur 3.3: Boksplot av antall svømmeperioder (mørkeperiode og med stimuli) ved ulike kombinasjoner av stimuli for voksne hanner. Median (strek), gjennomsnitt (X) og stimuli som oppnådde signifikant forskjell (stjerne) er angitt i grafen.	33
Figur 3.4: Boksplot av antall svømmeperioder (mørkeperiode og med stimuli) ved ulike kombinasjoner av stimuli for preadult 2 hunner. Median (strek), gjennomsnitt (X) og stimuli som oppnådde signifikant forskjell (stjerne) er angitt i grafen.	34
Figur 3.5: Boksplot for voksne hunner hvor antall sekunder i aktivitet er vist ved ulike kombinasjoner av stimuli for aktivitet i en 2 minutters mørkeperiode og 2 minutters periode med stimuli. Median (strek), gjennomsnitt (X) og stimuli som oppnådde signifikant forskjell (stjerne) er angitt i grafen.	35
Figur 3.6: Boksplot for voksne hanner hvor antall sekunder i aktivitet er vist ved ulike kombinasjoner av stimuli for aktivitet i en 2 minutters mørkeperiode og 2 minutters periode med stimuli. Gjennomsnitt (X) og median (strek) er angitt.	36
Figur 3.7: Boksplot for preadult 2 hunner hvor antall sekunder i aktivitet er vist ved ulike kombinasjoner av stimuli for aktivitet i 2 minutters mørkeperiode og 2 minutters periode	

med stimuli. Median (strek), gjennomsnitt (X) og stimuli som oppnådde signifikant forskjell (stjerne) er angitt i grafen.....	36
Figur 3.8: Boksplot som viser varighet for svømmeperioder (tid i sekunder) for voksne hunner plottet mot ulike kombinasjoner av stimuli for både mørkeperioden og perioden med stimuli. Median (strek), gjennomsnitt (X) og stimuli som oppnådde signifikant forskjell (stjerne) er angitt i grafen.....	37
Figur 3.9: Boksplot som viser varighet for svømmeperioder (tid i sekunder) for voksne hanner plottet mot ulike kombinasjoner av stimuli for både mørkeperioden og perioden med stimuli. Median (strek), gjennomsnitt (X) og stimuli som oppnådde signifikant forskjell (stjerne) er angitt i grafen.....	38
Figur 3.10: Boksplot som viser varighet for svømmeperioder (tid i sekunder) for preadult 2 hunner plottet mot ulike kombinasjoner av stimuli for både mørkeperioden og perioden med stimuli. Median (strek), gjennomsnitt (X) og stimuli som oppnådde signifikant forskjell (stjerne) er angitt i grafen.....	39
Figur 3.11: Andel individer som beveget seg over haloklin ved ulike saliniteter. Hver farge representerer en gruppe lakselus (Grønn – Voksne hunner (AF), Blå – Voksne hanner (AM), Gul – Preadult 1 hunn/ preadult 2 hann (PaF1/PaF2), Rød – Preadult 2 (PaF2)).....	40
Figur 3.12: Antall hopp (antall ganger individet beveget seg over haloklin) observert over haloklin vist mot den aktuelle saliniteten. Ulike farger representerer ulike grupper lakselus (Grønn – Voksne hunner (AF), Blå – Voksne hanner (AM), Gul – Preadult 1 hunn/ preadult 2 hann (PaF1/PaF2), Rød – Preadult 2 (PaF2)). Gjennomsnitt (X) og median (strek) er angitt.....	41
Figur 3.13: Tid (sekunder) av brukt i brakkvannslaget av alle individene totalt ved hver salinitet. Max tid per individ var 600 sekunder (3000-3600 sekunder per gruppe). Hver farge representerer hver sin gruppe lakselus (Grønn – Voksne hunner (AF), Blå – Voksne hanner (AM), Gul – Preadult 1 hunn/ preadult 2 hann (PaF1/PaF2), Rød – Preadult 2 (PaF2)).....	42

Tabeller

Tabell 2.1: Oversikt over faktorer som ble testet i lysforsøket. Alle kombinasjoner av farge, intensitet og pulsering ble testet.	21
Tabell 2.2: Oversikt over lys som ble testet under forsøket, oppgitt både med lysintensitet ($\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (400-700nm)) og bølgetopp.....	21
Tabell 2.3: Oversikt over stadier og saliniteter som ble testet i forsøket.	25
Tabell 2.4: Eksempel på mengdeforhold mellom ferskvann og saltvann. Her i en total 10 liters blanding med en startkonsentrasjon på 32,93 SAL ppt.	28
Tabell 3.1: Oversikt over tid (s) av max 10 minutter brukt over haloklin ved de ulike salinitetene for alle individer (minimum, maksimum, median, gjennomsnitt og standardavvik).	43

Forkortelser/symboler

AF	Adult female
AM	Adult male
PaF2	Preadult 2 female
PaM2	Preadult 2 male
PaF1	Preadult 1 female
ppt	Salinity part per thousand
Nm	Nanometer
Cm	Centimeter
Cm/sek	Centimeter i sekundet
Mm	Milimeter
°C	Grad celsius
%	Prosent

1 Introduksjon

1.1 Bakgrunn

Sjømatnæringen i Norge har opplevd enorm vekst, hvor verdien har mer enn doblet seg de siste 10 årene. Mye av veksten kommer fra havbruk, og da i all hovedsak oppdrett av Atlantisk laks (*Salmo salar*), som utgjør størsteparten av eksportverdien. Med en eksport på 1,3 milliarder tonn, omsatte laksenæringen i Norge for totalt 81,4 milliarder norske kroner i 2021 (Brækkan et al. 2022). Dette gjør Norge til den største produsenten av Atlantisk laks på verdensbasis. Mye av grunnen til suksessen er landets langstrakte kyst med mange fjorder som gir gode forhold for stor produksjon av Atlantisk laks. I dag finnes det flere hundre oppdrettslokalteter langs norskekysten, hvor den høyeste produksjonstettheten ligger på sørlige deler av Vestlandet (Barentswatch, 2023, Fiskeridirektoratet, 2020).

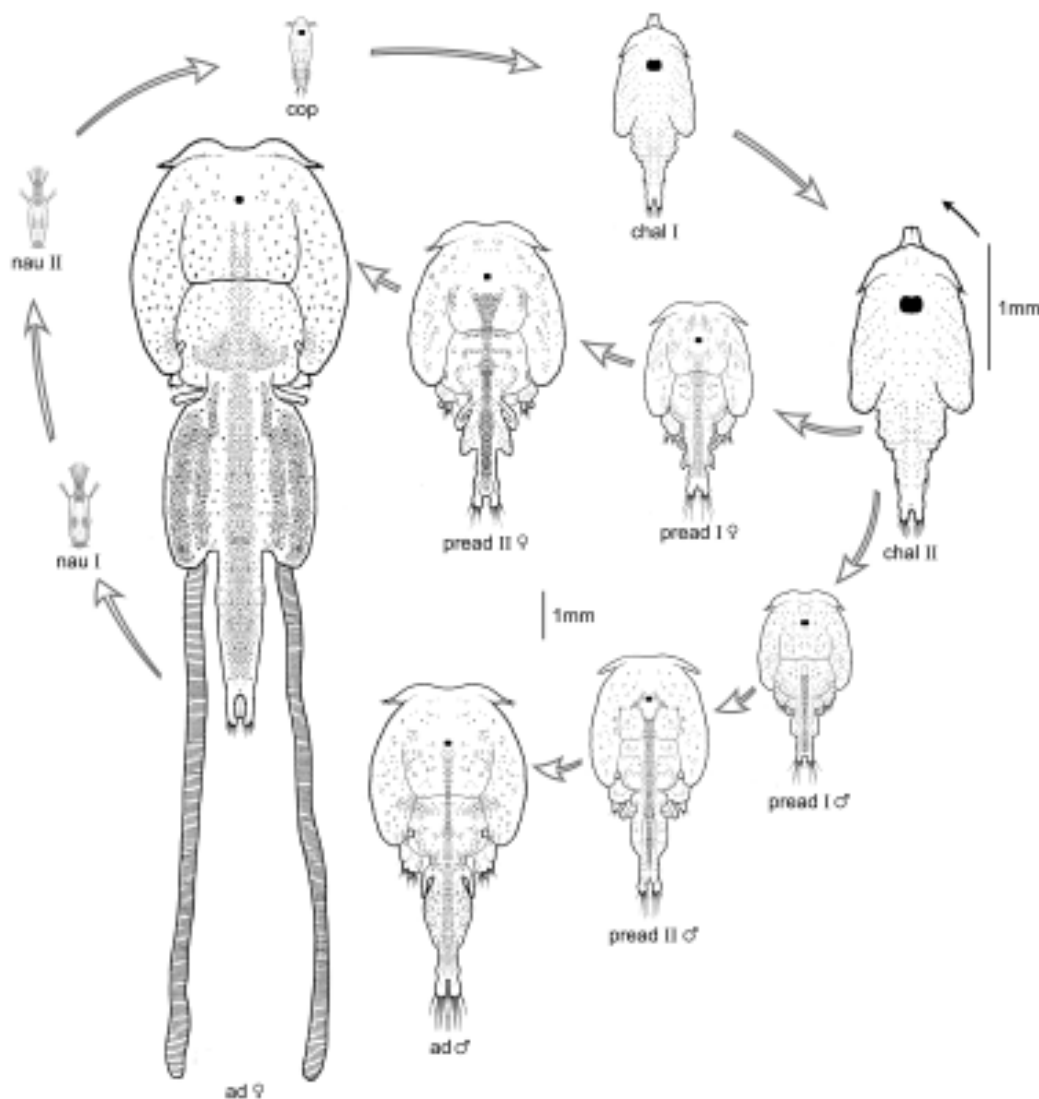
Storskala-produksjon av Atlantisk laks er derimot ikke uproblematisk ettersom stor tetthet av individer gir grobunn for parasitter og sykdommer (Dempster et al. 2021). Blant disse er det hoppekrepsene skottelus (*Caligus elongatus*) og lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) som utgjør størsteparten av problemet i Europa (Pike et al. 1991). Lakselus forekommer naturlig på den nordlige halvkule, hvor den hovedsakelig parasitterer salmonider slik som Atlantisk laks (Pike et al. 1991). Den anses i dag som en av de største truslene for villaks i Norge (Forseth et al. 2020), og en av hovedbegrensingene for videre vekst i laksenæringen (Kvamstø et al. 2023). I 2017 stod lakselusa for kostnader tilsvarende 6% av produktets verdi til en sum av 5 milliarder kroner (Iversen et al. 2017). Denne summen ekskluderer kostnader relatert til at oppdrettere til tider kan oppleve økt dødelighet, redusert appetitt og dermed mindre vekst som følge av lakselus, samt at oppdrettere kan være nødt til å slakte laksen for tidlig grunnet store mengder lakselus (Iversen et al. 2017).

1.2 Lakselus

Lakselus er en ektoparasittisk hoppekreps, som betyr at individene vil parasittere på utsiden av verten (Erkinharju et al. 2021, Pollack et al. 2017). Lakselus tilhører familien Caligidae som kjennetegnes av et rundt skjold, cephalothorax som fungerer som en sugekopp, og som tillater lakselusa å flytte seg rundt på utsiden av verten (Poppe et al. 1999). Her vil lakselusa spise blod, slim og hud fra verten sin, og ved større infeksjoner kan dette føre til huderosjoner, fysiske skader, osmoregulatorisk svikt, stress, økt forekomst av sykdommer og svekket immunforsvar (Overton et al. 2020). I verste fall kan fisken dø dersom antallet lakselus blir høyt nok. Hvor mange lakselus fisken tåler, varierer derimot med størrelsen og hvilket stadium lusa befinner seg i (Mo, 2024).

1.2.1 Livssyklus og utvikling

Livssyklusen til lakselus deles inn i 8 stadier hvor den gjennomgår et skallskifte mellom hvert stadie (Figur 1.1; Sea Lice Research Centre, 2020, Hamre et al. 2013). De to nauplie-stadiene og copepodittstadiet er planktoniske (Crosbie et al. 2020, Poppe 1999). Naupliene skifter skall to ganger, først fra nauplie 1 til nauplie 2 og deretter til copepoditt (Mo, 2024). Under copepodittstadiet er lusa nødt til å finne seg en vert, fordi copepoditten overlever på energireserver fra egget som etter hvert vil brukes opp (Pike et al. 1991, Crosbie et al. 2020). For å finne en vert søker copepoditten aktivt til de øvre vannmassene, og fester seg til verten. Deretter gjennomgår lusa et nytt skallskifte til Chalimus 1, og deretter til chalimus 2. Begge chalimus-stadiene er forankret i verten med et frontalfilament og kan ikke bevege seg rundt (Mo, 2024). Først når lusa når de to preadult-stadiene blir den mobil og kan bevege seg rundt på utsiden av verten. Det er også ved disse stadiene det blir mulig å skille hanner og hunner.



Figur 1.1: Livssyklusen til *L. salmonis*. Livssyklusen deles inn i 8 stadier med tre frittlevende stadier (nauplie I, nauplie II og copepoditt) og 5 parasittiske stadier (chalimus I, chalimus II, preadult I, preadult II og voksne) (Sea Lice Research Centre, 2020)

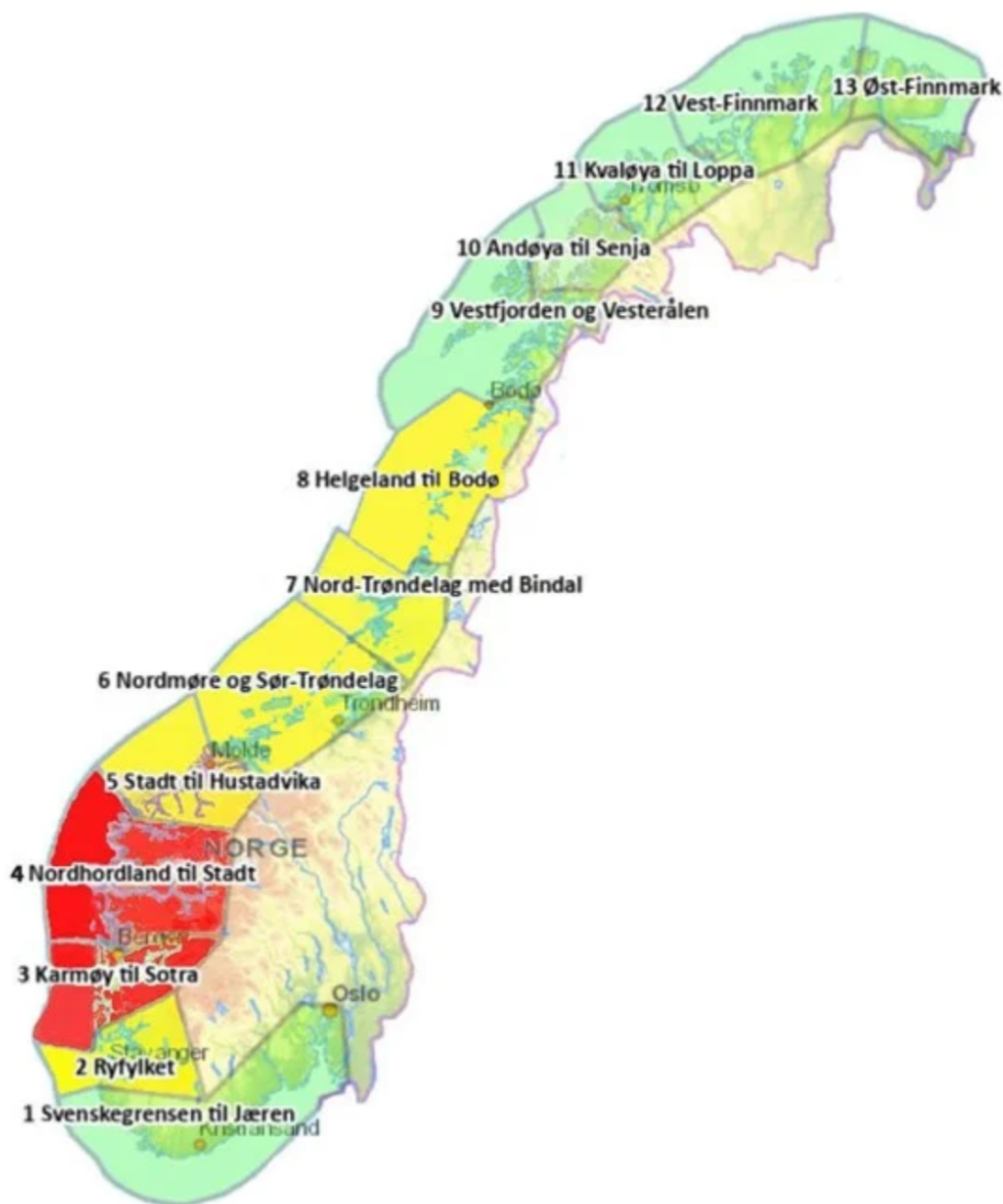
Etter de to preadulte stadiene utvikler lakselusa seg til å bli reproduktive voksne. Hannen blir reproduktiv først og er omtrent halvparten så stor som hunnen. Hunnen blir mellom 10-12 mm uten eggstrenger (Crosbie et al. 2020, Poppe 1999, Mo, 2024). Ved reproduksjon vil hannen holde rundt preadulte og voksne hunners bakdel frem til hunnen er av reproduktiv alder, og kan parre seg. Hunnen vil deretter legge befruktede egg i smale sekker, også kalt eggstrenger (Poppe, 1999). Hvor mange eggstrenger hunnen legger vil variere, men hver streng vil inneholde opptil flere hundre egg hver (Pike et al. 1991, Poppe, 1999) Etter befruktning vil eggstrengene forbli hengende fast i hunnen under embryoutvikling (Pike et al. 1991).

Utviklingen til lakselus er avhengig av både temperatur og salinitet i vannet (Hamre et al. 2019, Johnson et al. 1991). Blant annet observerte Hamre et al. (2019) at utviklingsraten for alle stadier av lakselus øker ved varmere vanntemperaturer opp til mellom 21-24°C. Ved 24°C ble det observert økt dødelighet, noe som tyder på at den maksimale temperaturen for utvikling hos lakselus ligger mellom 21-24°C (Hamre et al. 2019). Johnson et al. (1991) studerte utviklingen hos de yngste lakselusstadiene etter påvirkning av ulike saliniteter. Ved den laveste saliniteten, 10 ppt, klekket ikke eggene, og for å få levende nauplier måtte saliniteten opp på minimum 20 ppt. I samme studie ble det også observert at naupliene ikke utviklet seg til copepoditter før saliniteten lå på minimum 30 ppt, og selv da viste de dårlig overlevelse om de ble flyttet til lavere saliniteter etter utvikling (Johnson et al. 1991).

1.3 Kontroll av lakselusebestanden

Den intensive lakseproduksjonen som foregår i Norge, har gitt gode forhold for vekst og spredning av lakselus sammenlignet med naturlige forhold. Dette har skapt problemer for oppdrettslaksen, men også vill-laksen (Torrison et al. 2013). Ettersom lakselusa har negative helseeffekter, og anses som dårlig for velferden for både oppdrettslaks og vill-laks, er det satt en øvre grense på 0,5 hunnlus i gjennomsnitt per fisk i oppdrett (Luseforskriften, 2009). For å overholde dette, plikter oppdretterne å telle og rapportere luseforekomsten, samt iverksette tiltak dersom grensen overskrides (Luseforskriften, 2009).

Overvåkingen av lakselusas effekt på vill-laksbestander gir grunnlag for trafikklyssystemet som benyttes i Norge (Regjeringen, 2024). Dette systemet har delt norskekysten inn i 13 soner basert på strømforholdene (se figur 1.2; Regjeringen, 2024). Disse sonene gis hver deres farge (rød, gul eller grønn) av Nærings- og fiskeridepartementet hvert andre år, og dette bestemmer om oppdretterne i sonen kan øke produksjonen (grønt lys), holde produksjonen stabil (gult lys) eller om de må redusere produksjonen (rødt lys). Ved grønt lys kan oppdretterne i sonen øke produksjonen med opptil 6%, da det antas at mindre enn 10% av laksesmoltene vil dø som følge av lakselus. Rødt lys kan gi pålegg om 6% reduksjon da det antas at over 30% av laksesmoltene kan dø som følge av lakselus. Oppdretter kan derimot søke om unntak fra pålegget om det foreligger bevis for at lusetrykket er lavt. (Regjeringen, 2024).



Figur 1.2: Oversikt over de ulike produksjonsområdene i Norge, samt hvilke farger de hadde i trafikksystemet per 03.24. (Regjeringen, 2024)

For å overholde lusegrensene satt i forskriften om bekjempelse av lus i akvakulturanlegg, avluser oppdretterne fisken ved behov. Tidligere ble oppdrettslaks behandlet med medikamenter ved avlusing, da enten ved at medikamentet var tilsatt føret eller igjennom badebehandling av fisken (Aaen et al.2015; BurrIDGE et al.2010). I senere tid har lakselusa utviklet en resistens mot flere av disse medikamentene (Aaen et al.2015), og utviklingen har dermed gått i en retning mot mer bruk av ikke-medikamentelle avlusningsmetoder (Overton et al.2018).

For de ikke-medikamentelle metodene for avlusning er fellesnevneren behovet for trenging, pumping og behandling av fisken (Holan et al. 2017). Trengingen har som hensikt å samle fisken i merden før pumping, dette gjøres enten ved bruk av orkastnot eller kulerekke (Nersten, 2021). Fisken pumpes deretter inn i behandlingsfartøyet før den behandles enten ved oppvarmet sjøvann, spyling med eller uten børster eller med ferskvann som skaper osmotisk stress for lakselusa (Holan et al. 2017). Under trenging kan lakselus som sitter på fisken falle av, og havne tilbake i vannmassene (Nersten, 2021; Overton et al. 2018). Disse har potensiale til å reinfisere laksen, og utgjør en smitterisiko for laks på lokaliteten, men også muligens på nærliggende lokaliteter (Nersten, 2021; Overton et al. 2018). Per nå vet vi svært lite om hvordan lakselus som skilles fra verten sin oppfører seg eller hvor den blir av.

1.4 Adferdsresponser på lystimuli

Flamarique et al. (2000) testet responser på lys hos nauplier, copepoditter og voksne hunner av lakselus. Svømmeresponsen til individene ble målt i forhold til om reaksjonen kom når lyset ble slått på eller når lyset ble slått av. Studien hadde som fokus å se resultatene i sammenheng med lakselusa sin visuelle økologi, og da i forhold til det å finne en passende vert. Nauplier hadde en svømmerespons som økte når lyset ble slått av ved bølgelengder mellom 352-652 nm. Denne responsen økte i takt med lysintensitet opptil 652nm, ved høyere bølgelengder enn 652 nm hadde naupliene null respons, noe som antyder at synet til nauplier er mindre sensitivt og dermed bedre tilpasset skyggedeteksjoner (Flamarique et al. 2000).

Copepodittenes hadde en sterk respons i det lyset ble slått på. Responsen økte i takt med lysintensiteten, og reaksjonen var det samme under hvitt lys som under andre bølgelengder. Responsen var preget av en sterk svømmeaktivitet oppover i akvariet etterfulgt av passiv synking, etter hvert som individene ble vant til lyset (Flamarique et al. 2000). Voksne hunnulus hadde respons både når lyset ble slått på og når lyset ble slått av. Denne responsen bestod av raske svømmeutbrudd med passiv synking imellom, og av-responsen var større en på-responsen. Dette var uavhengig av bølgelengde (352-652 nm), med unntak av den høyeste på 701nm. Responsen økte med intensiteten (Flamarique et al. 2000).

Både hos copepodittene og voksne hunnulus var den absolutte sensitiviteten til hvitt lys høyere enn hos naupliene, dette kan tyde på at copepodittene og voksne hunnulus er bedre tilpasset det å finne en vert ved tider av døgnet hvor lyset er lavt, mens naupliene ikke er tilpasset å finne en vert (Flamarique et al. 2000).

Per nå er Flamarique et al. (2000) eneste studie som tester adferdsresponser på lysstimuli for lakselus, og da kun for planktoniske stadier og voksne hunnulus. Dermed er det mangel på kunnskap om hvordan de andre parasittiske stadiene responderer på lysstimuli. I tillegg mangler det kunnskap rundt hvilke lysstimuli de responderer på. Noe som kan være nyttig for å forstå hvordan de oppfører seg i vannmassene uten vert.

1.5 Overlevelse og adferdsrespons knyttet til lave saliniteter

De parasittiske stadiene av lakselus kan overleve i lengere perioder i ferskvann, og på migrerende laks viser Mclean et al. (1990) at laksen er fri for lakselus etter 15 dager i ferskvann. De planktoniske stadiene er derimot mer sensitive for lave saliniteter. Wright et al. (2016) fant allerede etter en time høy mortalitet hos copepodittene i ferskvann, mens chalimus og preadulte lakselus viste økt dødelighet etter 8 dager. Hos voksne lakselus ble det ikke funnet økt dødelighet. Dette tyder på at de parasittiske stadiene har metoder for å overleve i ferskvann, det antas blant annet at de tar opp ioner fra verten for å klare å regulere osmolaliteten (Sievers et al. 2019).

Andrews et al. (2020) undersøkte overlevelsen til copepoditter og preadult 2 lakselus uten vert ved ulike saliniteter. Grunnlaget for at Andrews et al. (2020) gjennomførte en slik studie var en økende bekymring i næringen for at ferskvannsbehandlinger ikke var så effektive som ønsket. Dermed ble det benyttet fire populasjoner av lakselus fra ulike geografiske områder i Norge. Studien fant stor variasjon i toleranse hos copepoditter fra ulike populasjoner, men ikke for preadult 2 (Andrews et al. (2020)).

Crosbie et al. (2019) undersøkte effekten på larvestadienes adferd, hvor resultatene tilsa at begge stadiene unngikk det øvre laget i større grad etter hvert som saliniteten ble lavere. Graden individene unngikk det øvre laget varierte derimot. Hos naupliene unngikk individene saliniteter under 30 ppt (Salinity parts per thousand) nesten fullstendig, mens copepodittene viste en mer gradvis nedgang i antall individer etter hvert som saliniteten ble lavere. Individer i saliniteter med 16-20 ppt ble også observert (Crosbie et al. 2019). Blant voksne og preadulte stadier av lakselus er det ikke gjort noen studier hittil for å undersøke adferdsrespons på ulike salinitetsgradienter, kun overlevelse i ferskvann. Og ettersom parasittiske stadier ser ut til å overleve lengere i ferskvann enn planktoniske, er det nyttig å undersøke hvordan de responderer på brakkvann av ulike saliniteter.

1.6 Hensikt

Hensikten med masteroppgaven er å undersøke adferdsrespons på ytre stimuli hos parasittiske stadier (preadulte og voksne) av lakselus uten vert. Oppgaven deles inn i to deler:

- Hvordan responderer voksne og preadulte lakselus på ulike lysstimuli med ulike farger, intensiteter og pulseringer.
- Hvordan responderer voksne og preadulte lakselus på brakkvannslag med ulike saliniteter?

2 Materialer og metoder

2.1 Lusekulturene på Sealab Brattøra

Forsøkene ble gjennomført på levende lakselus (*L. salmonis*) individer som ble hentet fra lusekulturene til Taskforce lakselus på NTNU Sealab (FOTS-id 29582). Lusekulturene blir holdt gående på Sealab kontinuerlig. De aktuelle individene benyttet i forsøkene var smittet opp med etterkommere av lakselus hentet fra produksjonsområde 6 (PO6) i mai 2023. Selve forsøkene ble utført i desember 2023 (2.generasjon lakselus) og mars 2024 (blanding av 2.generasjon og 3.generasjon lakselus). Utviklingen ble basert på daglige temperaturmålinger og oppsmittingsdato, som gjorde det mulig å anta stadium ut ifra Hamre et.al (2019), som tar utgangspunkt i vanntemperatur. Aktuelle stadier var preadulte og voksne lakselus av begge kjønn.

Lusekulturene holdes på Atlantisk laks i åtte 400L kar (100cm lengde x 100 cm bredde x 50cm høyde) inne på et klimakontrollert rom. Temperaturen holdes stabil på 10°C og lyset holdes kontinuerlig på. Vanntemperaturen måles daglig og varierer med sesong mellom 7,0°- 10,2°C. Antallet og størrelsen på fisken i hvert kar varierte, men kun fisk over 200g ble smittet opp med lakselus. Kulturene ble kontrollert for å håndheve grensen på maks 10 voksne og preadulte lakselus per fisk. Fisken ble sjekket daglig for sår og skader.

2.2 Bedøvelse av laks og uttak av lus til forsøk

Ved uttak av lakselus må laksen bedøves. For å bedøve laks ble 0,24 mL Benzoak vet. og 5mg Aquacalm vet. (Metomidate hydrochloride) per liter vann benyttet. Lakselus ble plukket av laksen med pinsett (Dumont #7 Forceps, Dumostar), og ble lagt i petriskål eller veieskip fylt med filtrert saltvann. Eventuelle eggstrenger på voksne hunnlus ble fjernet. Laksen ble satt tilbake i et annet kar etter plukking.

2.3 Lysforsøket

2.3.1 Eksperimentelt design

Forsøksoppsettet var et full-faktorielt design, som er en enkel metode som gir et estimat på hovedeffekter og interaksjoner (Natoli et.al, 2019). Et av kjennetegnene er at slike oppsett krever et høyere antall tester desto flere faktorer i designet (Natoli et.al, 2019). Bakgrunnen for det høye antallet forsøk, er at alle kombinasjoner av faktorene skal testes. I dette tilfellet er det snakk om 12 tester for å få kombinert 3 farger, med 2 ulike intensiteter og 2 ulike pulseringer. Tabell 2.1 viser en oversikt over faktorene testet. De 12 testene ble gjennomført for voksne hunnlus, voksne hannlus og preadult 2 hunnlus. For hvert av disse stadiene ble det kjørt 6 replikater i form av 6 individer.

Tabell 2.1: Oversikt over faktorer som ble testet i lysforsøket. Alle kombinasjoner av farge, intensitet og pulsering ble testet.

Farge	Intensitet	Pulsering
Rød	Høy	Blinkende 0,5:3 sekunder
Blå	Lav	Konstant
Grønn		

Som tabell 2.1 viser ble fargene rødt, blått og grønt valgt som stimuli til forsøkene. Valget baserte seg på hvordan vannet absorberer og sprer lys av ulike bølgelengder. De tre ulike fargene ble kombinert med to ulike intensiteter (høy og lav), som baserte seg på å simulere ulike dybder og lysforhold. Verdier for bølgelengder og intensitetene ($\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) er oppgitt i tabell 2.2. Variasjon mellom konstant og blinkende lys ble brukt som en tredje faktor. Det blinkende lyset hadde et intervall på 3 sekunder mørke og 0,5 sekunder med lys. Intervallene ble satt til disse verdiene basert på Miljeteig et al. (In prep) som så at korte lysblink (0,1:0,1) ble oppfattet som konstant lys for lakseluslarver. Dermed ble det bestemt lengere perioder med både lys og mørke, for å sikre at stimuli ble oppfattet som blink.

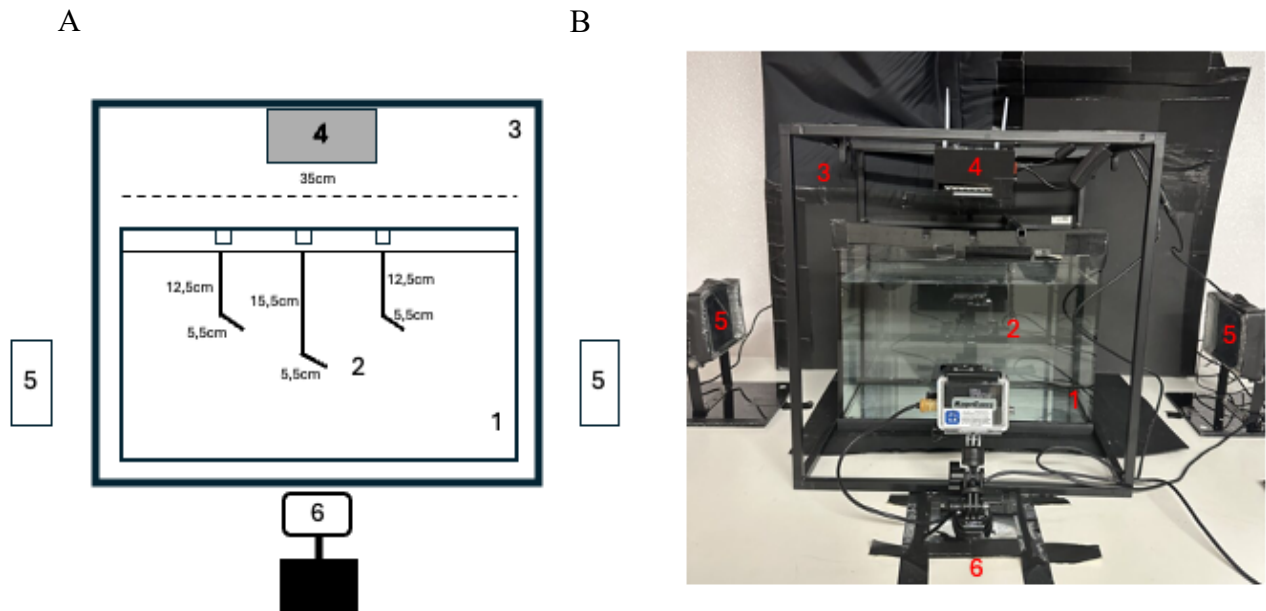
Tabell 2.2: Oversikt over lys som ble testet under forsøket, oppgitt både med lysintensitet ($\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (400-700nm)) og bølgetopp.

Farge / Bølgetopp	Intensitet	$\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (400-700nm)
Rød / 631 nm	Lav	0,021
Rød / 629 nm	Høy	2,962
Grønn/ 520 nm	Lav	0,024
Grønn/ 521 nm	Høy	2,613
Blå/ 462 nm	Lav	0,039
Blå / 462 nm	Høy	3,961

2.3.2 Eksperimentelt oppsett

Forsøksoppsettet bestod av et glassakvarium (mål: lengde 35 cm, høyde 26 cm, bredde 21 cm), fylt med filtrert saltvann (ca. 10 °C) fra inntak på NTNU Sealab. Vanntemperaturen økte utover i forsøksperioden til 17 °C ettersom klimarommet aldri ble temperaturregulert. På begge sidene av akvariet ble det plassert infrarøde lyskastere (IR30, Smartprodukter Norge AS, bølgetopp 844 nm). En modulhylle (Clas Ohlson) ble bygget opp rundt akvariet for å henge opp en lyskilde (Arduino LED array control box) (se figur 2.1). Foran oppsettet ble et GoPro kamera plassert (GoPro Hero 3+).

Oppheng for lus ble konstruert av metallstenger (overskuddsdeler fra en modullhulle) og mosgummi. Metallstengene var 24 cm lange og ble pålimt mosgummi ettersom det ikke ruster og ikke er giftig. Disse ble klipt i en L-form (se figur 2.1). Mosgummien ble klipt i to forskjellige lengder, to korte (12,5 cm) og en lang (15,5 cm). Det lengste opphenget ble plassert i midten. Den korte delen av L-formen var 5,5 cm lang. Opphengene ble lagt i vann dagen før forsøkstart for å trekke ut eventuell toksisiteten av limet. I enden av L-formen ble det pålimt en splittet 4 cm lang sytråd (Polyester).

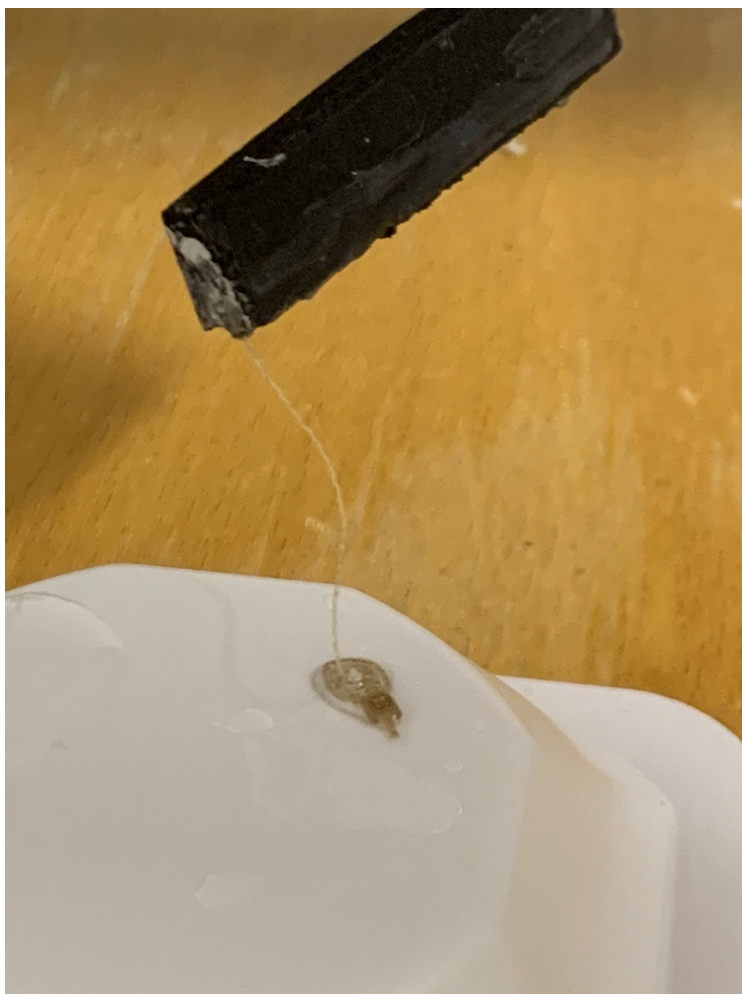


Figur 2.1: Skjematisk figur (A) og bilde (B) over forsøksoppsettet brukt til å utføre lysforsøkene. Det eksperimentelle oppsettet bestod av et akvarium (1), oppheng konstruert av mosgummi (2), modullhulle (3), Arduino lyskilde (4), infrarøde lyskastere (5) og et GoProkamera (6).

2.3.3 Oppheng av lakselus

Lakselus-individene ble inspisert i lupe (Leica, modell MDG34, Singapore) før bruk for å sjekke kjønn og stadium. For å sjekke stadium ble millimeterpapir lagt under petriskåla med den aktuelle lakselusa, og størrelsen ble benyttet til å bestemme stadiet. For å bestemme kjønn ble et referansebilde benyttet (se vedlegg A).

Totalt ble tre individer av lakselus limt opp per forsøksrunde. De ble alle limt opp enkeltvis på hver sitt oppheng med sytråd. Et individ av lakselus ble ført ut av petriskålen med en kirurgisk pinsett og lagt på baksiden av et veieskip med ryggskjoldet opp (se figur 2.2). Eventuelt overflødig vann ble fjernet slik at lakselusa skulle ligge så rolig som mulig. Deretter ble det klemt ut en dråpe Loctite lynlim (Henkel) på baksiden av det samme veieskipet, med god avstand til selve lakselusa slik at den ikke skulle lime seg fast i veieskipet. Sytråden på opphenget ble ført med enden ned i lynlimet slik at tråden fanget opp litt lim før den samme enden ble lagt på ryggskjoldet til lakselusa. Det ble forsøkt å unngå å lime over øyet på lakselusa. Når limet hadde tørket (i noen få sekunder) ble opphenget med lakselusa overført til akvariet.



Figur 2.2: Bilde av voksen hunnslus som blir limt fast i sytråd. Her på baksiden av et veieskip.

2.3.4 Eksperimentell prosedyre

Selve kameraoppsettet var koblet til strøm under forsøket og ble styrt via GoPro appen på et Samsung nettbrett. Opptak kunne dermed fjernstyres fra utsiden av rommet. Lyskilden ble programmert til riktig stimuli med programmet Arduino IDE (Arduino SA, 2023 v2.2.1). Alle kodene var konstruert før start slik at endring kunne skje raskt ved å plugge en USB-kabel inn og ut av en datamaskin. Kodene baserte seg på koder utviklet av Stephen Grant, NTNU (2022; Vedlegg B). Lyskilden ble omprogrammert for hver stimulus, men startet alltid med 5 minutter mørke før aktuell stimulus. Rekkefølgen ble randomisert i Excel (Microsoft, 2024, v16.83) før start.

Opphengene ble plassert i faste spor på akvariekanten med 5 cm mellomrom. Kombinert med ulik dybde på opphengene sørget dette for tilstrekkelig avstand mellom lakselusindividene. Et svart teppe (Polyurethane dekt nylon, Thorlabs) ble lagt over oppsettet for å hindre lysforstyrrelser, og det ble sørget for at USB kablen til lyskilden ble lagt tilgjengelig slik at det ikke ble nødvendig å løfte teppe for å endre lysstimuli. Deretter ble nettbrett og PC fjernet fra rommet, alt lys ble avslått, og døren lukket.

Det ble hengt opp tre lakselus individer med samme stadie. For preadult 2 hunner ble individene utsatt for fire ulike stimuli, og voksne lakselus ble utsatt for seks stimuli før utskiftning av individer. Mellom hver stimulus ble lakselusa akklimatisert i mørke i 10 minutter. Deretter ble aktivitet filmet i 8 minutter (3 minutter mørkeperiode, 3 minutter med lysstimuli og 2 minutter mørkeperiode). Klokkeslett for start av film, varigheten av filmen og filnavnet ble skrevet ned i et Excel-dokument. Under periodene med akklimatisering ble lyskilden omprogrammert. Prosessen ble gjentatt for alle lysstimuli (se tabell 2.1).

For å få ønsket antall replikater, og det kun ble kjørt tre individer av gangen, måtte hele forsøket gjentas to ganger for hvert stadie. Slik at det ble testet seks individer av hvert stadie for alle lystimuli. Rekkefølgen på stimuli ble randomisert på nytt hver runde.

Videoene ble lagret på en ekstern harddisk (Seagate Expansion 2TB) og i OneDrive.

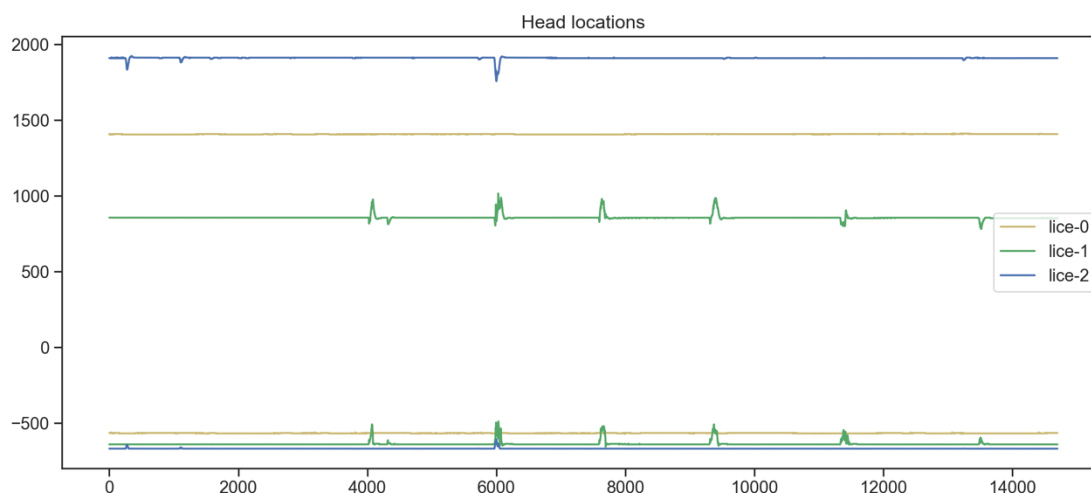
2.3.5 Videoanalyse

For å analysere video fra lysforsøkene ble programmet Sleaf.ai (v.1.3.3) tatt i bruk. Sleaf.ai er en åpen kildekode som baserer seg på maskinlæring for å spore bevegelsene til dyr (Pereira et al. 2022). Sleaf.ai, heretter referert til som Sleaf, ble kjørt på IDUN (High performance computing cluster driftet av NTNU) som ble installert i henhold til dokumentasjonen på nettsiden deres (NTNU, 2024). Det å bruke IDUN betyr at en har tilgang på en klynge kraftige datamaskiner som gir ulike ressurser, blant annet GPU (Sæther, 2024).

Alle de aktuelle videoene som skulle analyseres ble lastet opp i IDUN, og deretter importert inn i Sleaf. For å kunne analysere videoene måtte modellen trenes i Sleaf. Dette ble gjort i henhold til brukerveiledningen på nettsiden, og innebar å opprette et skjelett og markere aktuelle individ i et utvalg bilder som lå til grunn for treningen (Sleaf, 2019-2023). Den trente modellen ble benyttet til å analysere videoene ved hjelp av funksjonen «run inference» som ga et spor (tracks) per lakselus. Sporene ble korrekturlest i henhold til brukerveiledningen, og eventuelle feil ble rettet (Sleaf, 2019-2023). Ferdige analyser ble lastet ned som HDF5 fil for å være kompatibel med Python-kodene utviklet av Sleaf, og modifisert Maja Hatlebakk (Se vedlegg C).

HDF5 filene fra videoanalysen ble lastet opp i programmet PyCharm (v2020.3.3, community edition, JetBrains s.r.o). Her ble filene kjørt igjennom en visualiserings kode som ga en visualisering av bevegelsen (se figur 2.3). Grafen ble benyttet til å oppdage feil ved analysen, og i enkelte tilfeller sammenlignet med den aktuelle videoen. Dersom analysen ikke hadde synlige feil eller mangler, ble dataene hentet ut ved hjelp av en Python kode som leste av HDF5-filen til en CSV-fil.

Sleaf analysen ga data for x og y koordinat, samt hastighet for hvert individ, per bilde (30 bilder per sekund). For videre analyse ble stadie, bildenummer, stimuli og lys lagt til manuelt i Excel (Microsoft, 2024, v16.83). For de høye intensitetene ble start og slutt hentet i videoen og Sleaf. For de lave lysintensitetene var det ikke mulig å oppdage lyset i videofilene eller Sleaf, så her ble benyttet et estimat ut ifra start tidspunktet for de høye intensitetene. Hvert stadium fikk sitt eget estimat.



Figur 2.3: Et eksempel på graf fra Python som plottes bevegelse til hver enkelt lus mot bildene i videoen.

2.4 Salinitetsresponser og synkehastighet

2.4.1 Eksperimentelt design

Stadiene voksne hunner, voksne hanner, preadult 2 hunn og en blanding av preadult 2 hann/preadult 1 hunn ble benyttet i forsøket. Alle stadiene ble testet for seks ulike saliniteter (Tabell 2.3), oppgitt som ppt (salinity part per thousand), med unntak av preadult hunn 2 som ikke ble testet for 5 ppt grunnet mangel på forsøksindivider.

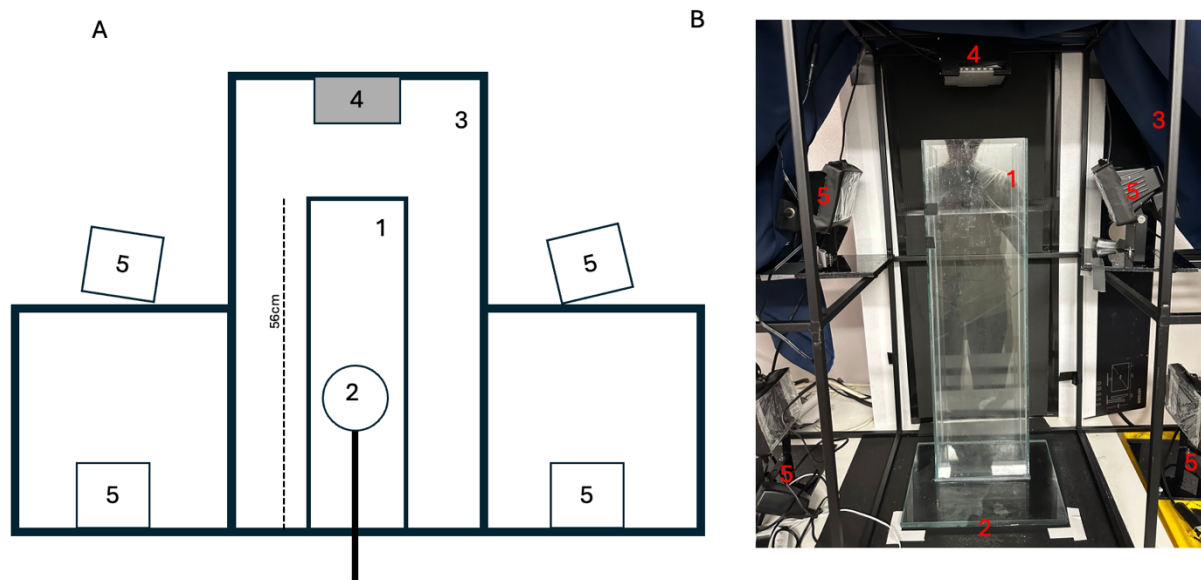
Tabell 2.3: Oversikt over stadier og saliniteter som ble testet i forsøket.

Stadie	Saliniteter (ppt)
Voksne hunnlus	32 (kontroll), 25, 20, 15, 10 og 5
Voksne hannlus	32 (kontroll), 25, 20, 15, 10 og 5
Preadult 1 hunn + preadult 2 hann	32 (kontroll), 25, 20, 15, 10 og 5
Preadult 2 hunn	32 (kontroll), 25, 20, 15 og 10

2.4.2 Eksperimentelt oppsett

Forsøksoppsettet bestod av et glassakvarium (mål: lengde 16 cm, høyde 56 cm, bredde 10 cm) som var festet i en glassplate (25 x 20 cm) for stabilitet (laget av NTNU glassblåserverksted), se figur 2.4. Akvariet ble plassert inni en hyllemodul (Clas Ohlson) som ble brukt til å feste lyskilder i. Det ble totalt benyttet fire infrarøde lyskaster (IR30, Smartprodukter Norge AS, bølgetopp 844nm) for å lyse opp vannsøylen. To av lyskasterne ble plassert for å lyse opp nedre del av akvariet, mens de to andre ble festet i modulhyllen 24 cm lengere opp (se figur 2.4). Lyskilden (Arduino LED array control box) ble festet med strips i modulhyllen over akvariet. USB kablen fra lyskilden ble forlenget slik at lyset kunne programmeres fra utsiden av rommet.

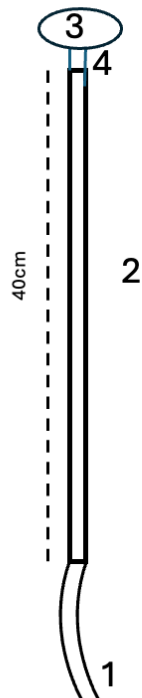
Et Kamera (Sony HD handycam, modell HDR-XR550VE, produsert i Japan) ble festet på et kamerastativ (Caruba Tabelpod 103cm Ballhead). Kamerastativet ble igjen festet i en tetrapod for å gi riktig høyde. Kamera ble stilt i riktig posisjon ved å koble en HDMI kabel koblet til kamera og en dataskjerm (Dell, Tsjekkia) på utsiden av forsøksrommet. Skjermen ble brukt til å sjekke at akvariet var i bilde og at IR-lyset fungerte som det skulle.



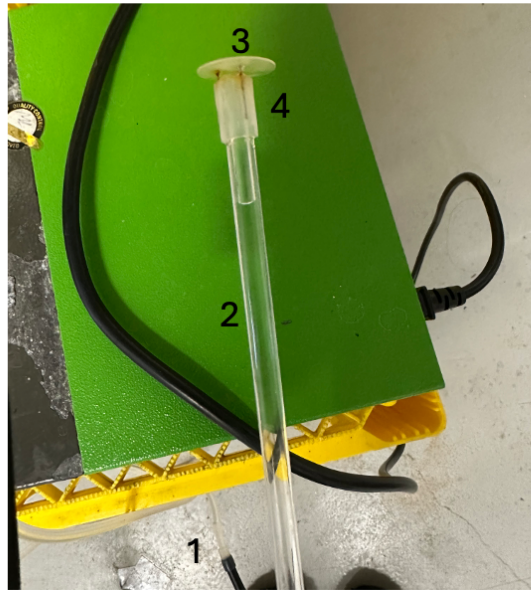
Figur 2.4: Skjematisk figur (A) og bilde av oppsettet (B) brukt i forsøkene med ulike saliniteter. Oppsettet bestod av et glass akvarium (1), et Sony kamera (2), modullhylle (3), Arduino lyskilde (4) og infrarøde lyskastere (5). Kamera ble plassert i sentrum foran oppsettet og er ikke synlig på bilde.

For å lage brakkevannslag i akvariet ble en pumpe (Watson Marlow 505S, England) brukt. Den fungerte ved at en plastslange ble festet til pumpa med den ene åpningen ned i den aktuelle saliniteten og den andre festet til et 40cm langt glassrør. Glassrøret ble festet med teip (sølvgrå gorilla teip) til innsiden av akvariet slik at enden på røret gikk ned til saltvannslaget. I enden av glassrøret var en rund plastskeiv festet med knappenåler (se figur 2.5) slik at vannet traff den flate skiven før det skled av på toppen av saltvannet. Metoden ble testet med konditorfarge før forsøksstart (se figur 2.6).

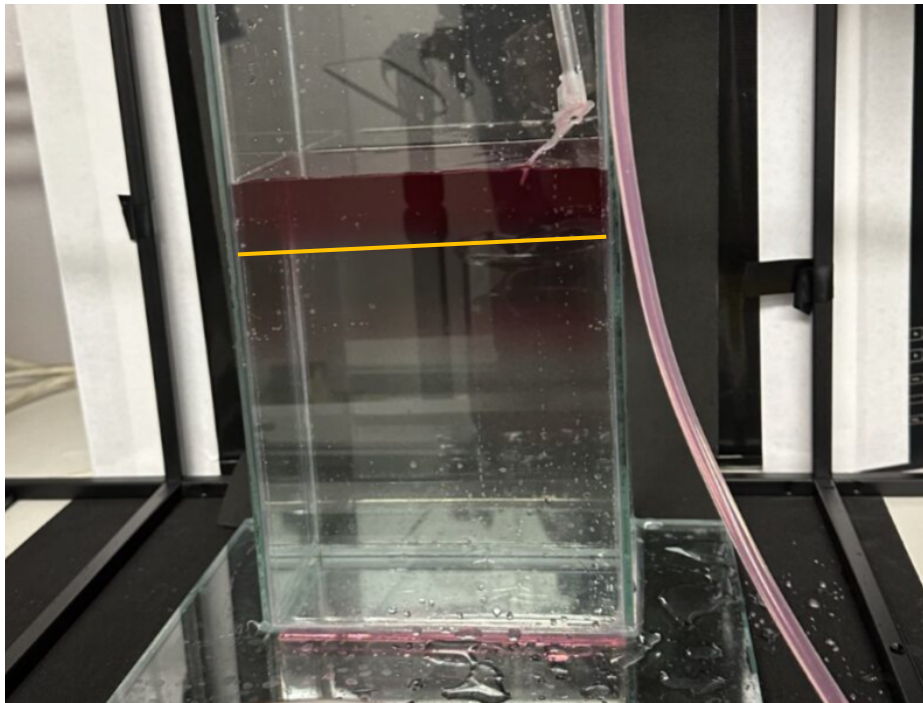
A



B



Figur 2.5: Skjematisk figur (A) og bilde (B) av glassrøret med plastskiven som ble laget for å fylle brakkvannslag oppå saltvann. En plastslange (1) ble festet i et glassrør (2) og en rund plastkive (3) festet med knappnåler (4).



Figur 2.6: Bilde fra testen gjort med konditorfarge. Den gule linjen markerer hvor det røde vannet begynner og dermed også brakkvannlaget.

De ulike salinitetene benyttet i forsøket ble blandet ut før start. Det ble utført ved å benytte en salinitetsmåler og først måle saliniteten i det filtrerte sjøvannet fra NTNU Sealab. Mengden ferskvann som måtte tilsettes saltvannet for å oppnå ønsket salinitet ble regnet ut. Se tabell 2.4 for et eksempel på mengdeforhold mellom ferskvann og saltvann gjort for en 10 liters blanding hvor startkonsentrasjonen var 32,93 ppt. Salinitetsmåleren ble brukt til å kontrollere utblandet salinitet og eventuelt justere ved behov. Kannene ble oppbevart på samme klimarom som forsøksoppsettet for å holde lik temperatur.

Tabell 2.4: Eksempel på mengdeforhold mellom ferskvann og saltvann. Her i en total 10 liters blanding med en startkonsentrasjon på 32,93 ppt.

Salinitet (ppt)	Mengde saltvann (L)	Mengde ferskvann (L)
32 (kontroll)	9,45	0,55
25	7,6	2,4
20	6,08	3,92
15	4,55	5,45
10	3,04	6,96
5	1,52	8,48

2.4.3 Eksperimentell prosedyre

I forsøkene ble det brukt levende individer av lakselus som kom fra lusekulturene beskrevet i kapittel 2.1. De ble hentet etter fremgangsmåten beskrevet i kapittel 2.2 og oppbevart i veieskip eller i inkubator frem til bruk. Det ble plukket en større mengde lakselus per plukking for å unngå å måtte bedøve fisken og plukke lakselus for hver salinitet som ble testet. Lakselusa som ikke ble brukt med en gang, ble satt i klimaskap (12-14 °C) eller inkubator basert på estimert ventetid.

Akvariet ble fylt med saltvann (32 ppt) opp til 45 cm (kontroll) og 25 cm (ved bruk av brakkvannslag) høyde markert med en teipbit. Lyset ble slått av og kamera slått på før tilsetning av lakselus for å kunne måle synkehastighet ved kontrollrunden. Ved testing av ulike saliniteter ble kamera slått på etter tilsetning av lakselus og brakkvannslag. 5-6 lakselus ble tilsatt fra toppen ved bruk av en kirurgisk pinsett før brakkvannslaget ble fylt på. Døra inn til klimarommet stod på gløtt for å få noe lys inn. For å fylle brakkvannslag ble glassrøret (figur 2.6) festet til innsiden av akvariet med teip, med plastskiven akkurat i kontakt med saltvannslaget. Motsatt ende av slangen ble lagt i den aktuelle saliniteten, og pumpen ble startet på lavhastighet for å etablere haloklin. Deretter ble hastigheten økt gradvis samtidig som røret ble hevet etter hvert som vannstanden steg.

Rommet ble forlatt og lyskilden koblet på (blått høy intensitet med en blink på 0,5 sekunder på og 3 sekunder av). Lysstimuli stod på i 10 minutter før den ble koblet av, kamera ble stoppet like etterpå. Deretter ble akvariet tømt og gjenværende lus fjernet mellom rundene, ved unntak for mellom kontroll runden og 25 ppt. Individene fra kontrollrunden ble gjenbrukt for 25 ppt. Det ble gjort ved å tømme akvariet ned til 25 cm høyde i svakt, diffust lys med hevert. Lakselusa holdt seg i nederste sjiktet av akvariet, men vannet som ble fjernet fra akvariet ble allikevel sjekket for lakselus.

Alt videomateriell ble overført til PC og harddisk av typen Seagate Expansion 2TB.

2.4.4 Videoanalyse

Videoene ble manuelt analysert ved å observere individer som beveget seg over haloklin. Antall individer, antall ganger (hopp) og tiden de enkelte individene befant seg over haloklin ble notert ned, og det ble forsøkt å skille mellom individene for å kunne si noe om andelen individer som beveget seg over haloklin. Kontrollgruppen ble brukt til å estimere synkehastighet ved å markere synkende individer i Sleaf (v1.3.3) per 30. bilde for å hente ut x- og y-koordinat. Kamera benyttet hadde en bildefrekvens på 25 bilder i sekundet. Bilder av akvariet hentet fra Imovie ble analysert i ImageJ (Fiji, 2024, versjon 1) for å estimere piksler per millimeter. Det ble brukt til å regne om avstanden mellom posisjonene på hvert bilde til millimeter.

2.5 Dataanalyse

2.5.1 Analyse av data for lysrespons

For å analysere data ble R (The R foundation, 2021. v4.2.3) brukt igjennom Rstudio (Posit software, 2023, v2023.12.1+402) for å plote linjediagram for et utvalg av datasett (12 av 36 totalt). Koden som ble benyttet var utviklet av Maja Hatlebakk (se vedlegg D). Grenseverdien ble satt til 3,0 for alle stadier slik at hastigheter under 3,0 ikke ble klassifisert som svømming. Eksempel på grafer benyttet til å sette grenseverdi finnes i kapittel 3.1. En kode ble utviklet for å telle antall svømmeperioder (alle områder i datasettet med verdier 3,0 og oppover og ned under bilde igjen) per datasett. Koden ble utviklet av Maja Hatlebakk og modifisert ved bruk av Chat GPT til å kunne begrense søket til 2 minutter mørkeperiode og to minutter med stimuli, 2 minutter utgjorde 3600 bilder. Dataen ble brukt til å beregne antall svømmeperioder per minutt. For de høye intensitetene ble 2 min undersøkt rett før og rett etter stimuli ble slått på. For de lave ble det lagt 500 bilder imellom de to periodene. Dataene ble plottet i et boksplott. Varigheten av svømmeperiodene ble telt manuelt i excel (Microsoft, 2024, v16.83).

2.5.2 Analyse av data for respons på saliniteter

Dataene fra salinitetsforsøket ble plottet i excel (Microsoft, 2024, v16.83).

2.6 Statistisk analyse

2.6.1 Lysrespons

For å teste signifikante forskjeller mellom mørkeperioden og perioden med stimuli ble t-tester benyttet. Det ble først utført t-tester for alle data med stimuli sammenlignet med mørkeperiode for å teste responsen på lys generelt. Det gjaldt data for antall svømmeperioder, tid i aktivitet og varigheten av svømmeperiodene. Deretter ble hver enkelt stimulus testet for signifikante forskjeller ved hjelp av parede t-tester (antall svømmeperioder og tid i aktivitet) og vanlig t-test (varigheten av svømmeperiodene). Signifikansnivå ble satt til 0,05 for alle t-tester.

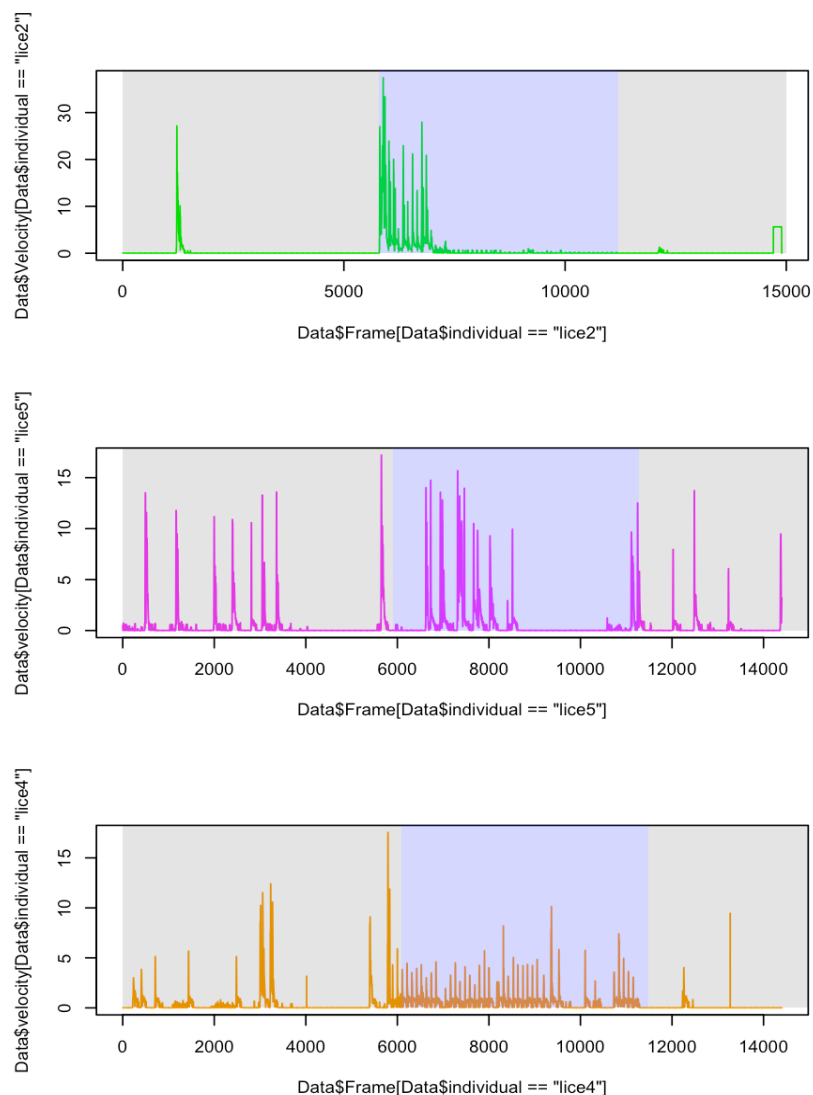
En trefaktor ANOVA ble benyttet til å teste responsen (signifikansnivå 0,05) på de ulike faktorene (farge, intensitet, bevegelse) og interaksjonene mellom dem. Dersom signifikant resultat ble oppnådd ble en post hoc test i form av Tukey´s HSD benyttet til videre analyse. Både post hoc og trefaktor ANOVA ble kjørt i R (The R foundation, 2021. v4.2.3) igjennom Rstudio (Posit software, 2023, v2023.12.1+402).

3 Resultater

3.1 Lysrespons hos lakselus

3.1.1 Eksempler på grafisk fremstilling av bevegelse

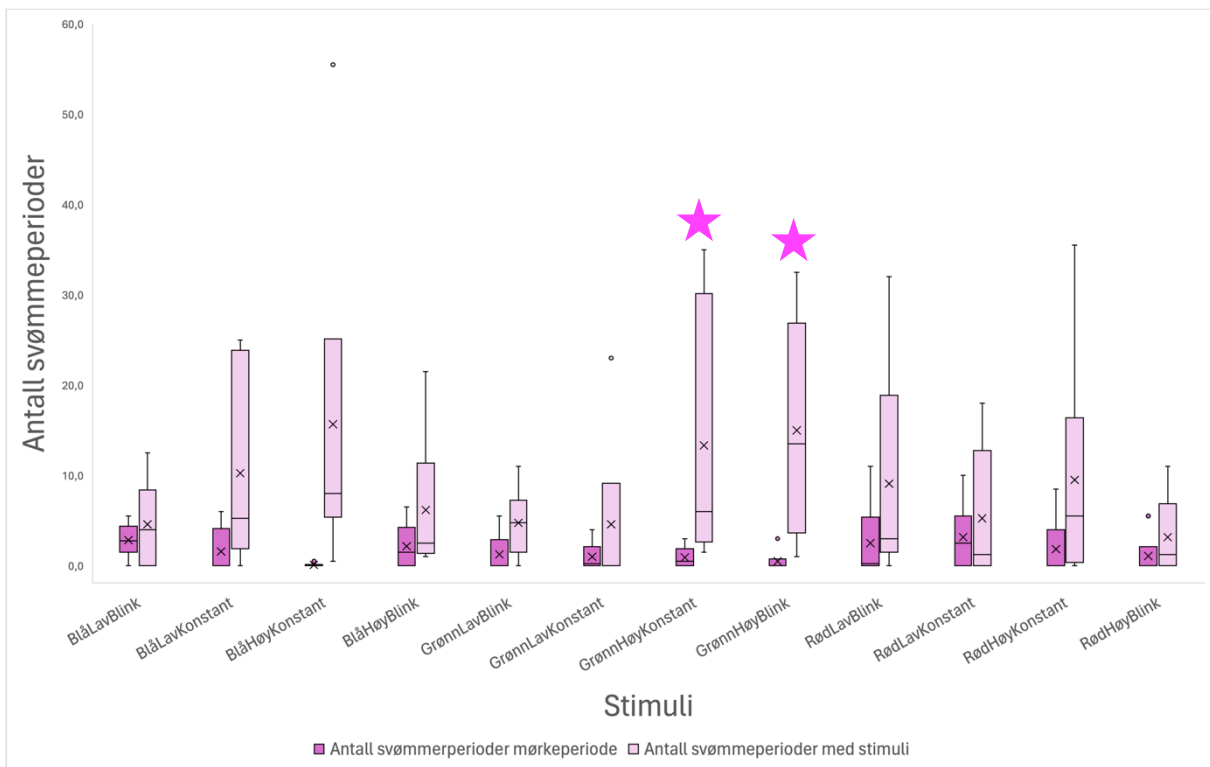
Figur 3.1 viser en grafisk fremstilling av aktiviteten til 3 enkelt individer: en voksen hunnlus (grønn), en voksen hannlus (rosa) og en preadult 2 hunn (oransje) utsatt for stimuli (grønn, høy intensitet, blinkende). Aktiviteten er presentert som hastighet plottet mot bildenummer, med et blått felt for å representere stimulus. Figurer slik som eksemplene vist i figur 3.1 ble benyttet til å bestemme grenseverdiene satt i 2.5.1.



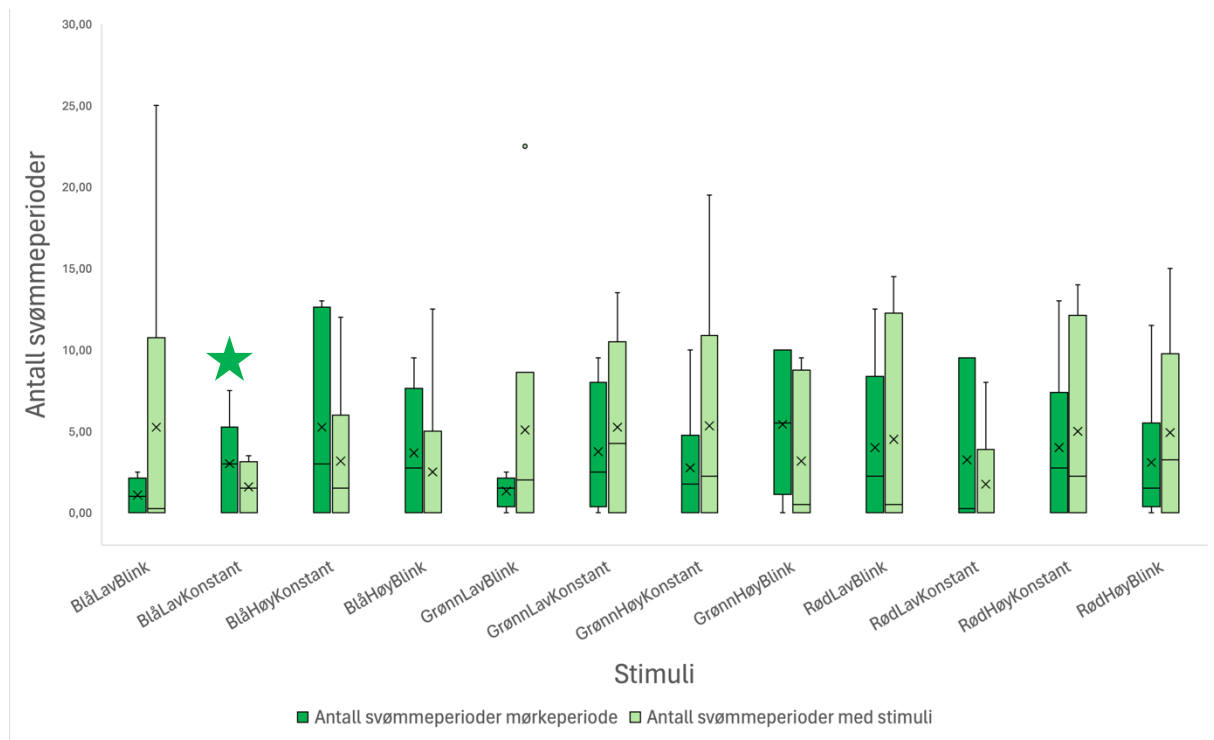
Figur 3.1: Grafisk fremstilling av bevegelsen (hastighet plottet mot bildenummer) til 3 enkelt individ, 1 voksen hunnlus (grønn), 1 voksen hannlus (rosa) og 1 preadult 2 hunn (oransje) utsatt for stimuli (Grønn, Høy intensitet, Blinkende) angitt som det blå feltet. X-aksen representerer enkeltbilder fra video og 14000 bilder tilsvarer 467 sekunder. Y-aksen viser relativ hastigheten per bilde.

3.1.2 Antall svømmeperioder med og uten stimuli

Figur 3.2 viser antall svømmeperioder per minutt for voksne hunnlus testet mot ulike kombinasjoner av stimuli. Resultatet viste en signifikant økning (t-test, $p < 0,001$) i antall svømmeperioder med stimuli (alle stimuli samlet) sammenlignet med mørkeperiode (alle stimuli samlet). Av individuelle stimuli var det kun grønt, høy intensitet, blinkende lys (t-test, p -verdi=0,014) og grønt, høy intensitet, konstant lys (t-test, p -verdi=0,045) som hadde signifikant påvirkning på antall svømmeperioder. Faktorene (farge, intensitet og pulsering) hadde ingen signifikant påvirkning på antall svømmeperioder som individuelle faktorer.

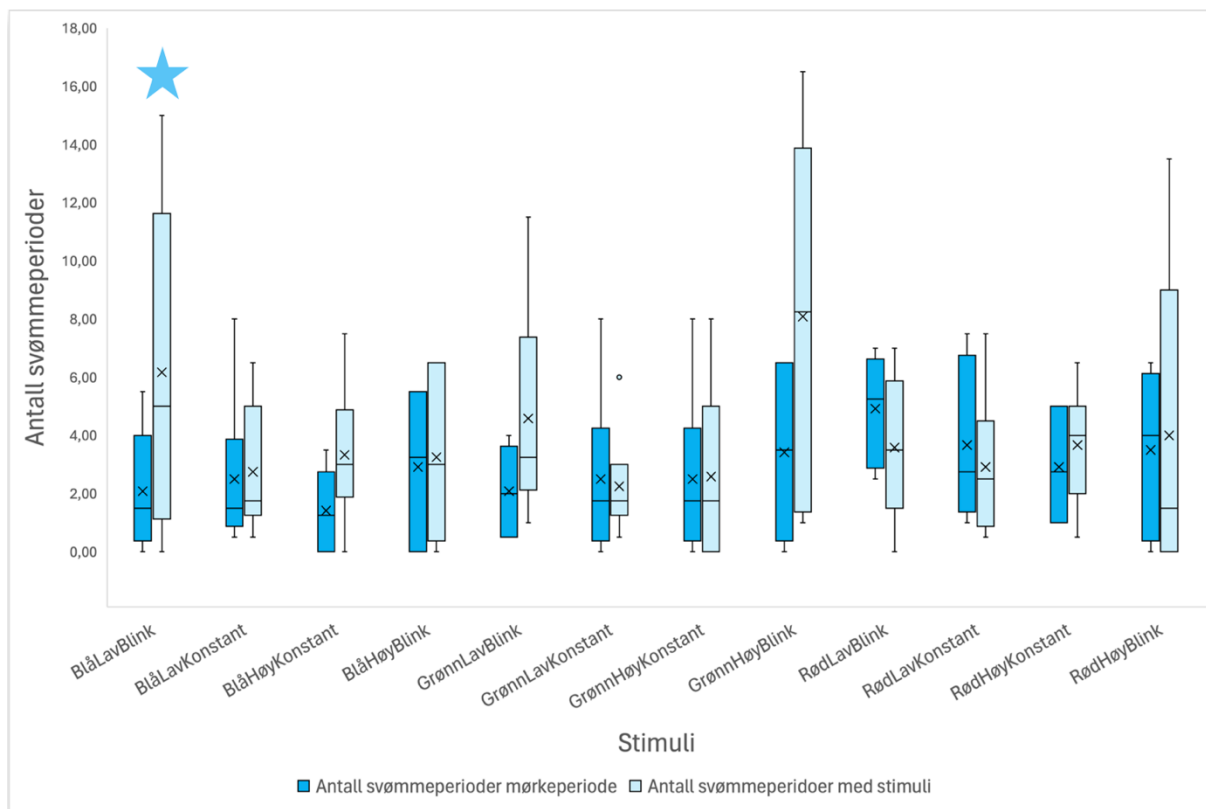


Figur 3.2: BoksploTT av antall svømmeperioder (mørkeperiode og med stimuli) ved ulike kombinasjoner av stimuli for voksne hunner. Median (strek), gjennomsnitt (X) og stimuli som oppnådde signifikant forskjell (stjerne) er angitt i grafen.



Figur 3.3: Boksplot av antall svømmeperioder (mørkeperiode og med stimuli) ved ulike kombinasjoner av stimuli for voksne hanner. Median (strek), gjennomsnitt (X) og stimuli som oppnådde signifikant forskjell (stjerne) er angitt i grafen.

For voksne hanner (figur 3.3) var det ingen signifikant forskjell (t-test, p-verdi=0,49) mellom antall svømmeperioder med stimuli (alle stimuli samlet) og mørkeperioden (alle stimuli samlet). Kun blått, lav intensitet, konstant lys viste signifikant nedgang (t-test, p-verdi=0,034) i antall svømmeperioder med stimuli. De ulike faktorene (farge, intensitet og pulsering) viste ingen signifikant påvirkning på antall svømmeperioder som individuelle faktorer.



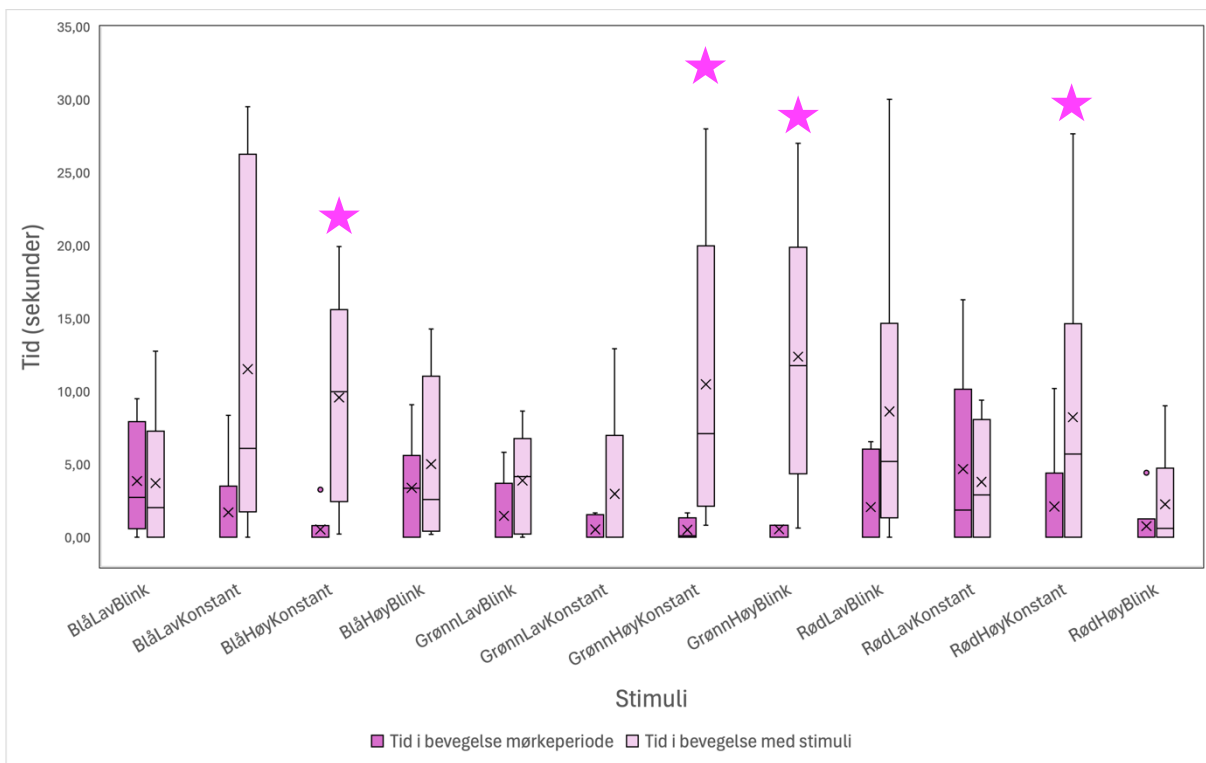
Figur 3.4: Boksplot av antall svømmeperioder (mørkeperiode og med stimuli) ved ulike kombinasjoner av stimuli for preadult 2 hunner. Median (strek), gjennomsnitt (X) og stimuli som oppnådde signifikant forskjell (stjerne) er angitt i grafen.

For preadult 2 hunner (figur 3.4) var det en signifikant økning (t-test, p-verdi=0,046) i antall svømmeperioder med stimuli (alle stimuli samlet) sammenlignet med mørkeperioden (alle stimuli samlet). Kun blått, lav intensitet, blinkende lys viste signifikant økning (t-test, p-verdi=0,023) på antall svømmeperioder som individuell stimulus.

Pulsering var eneste faktor som viste signifikant påvirkning (trefaktor ANOVA, p-verdi=0,024) på antall svømmeperioder. Påfølgende post hoc (Tukey's HSD, p-verdi=0,022) viste signifikant økning i antall svømmeperioder ved blinkende lys (gjennomsnittsverdier, konstant: 2,9 og blink:4,2).

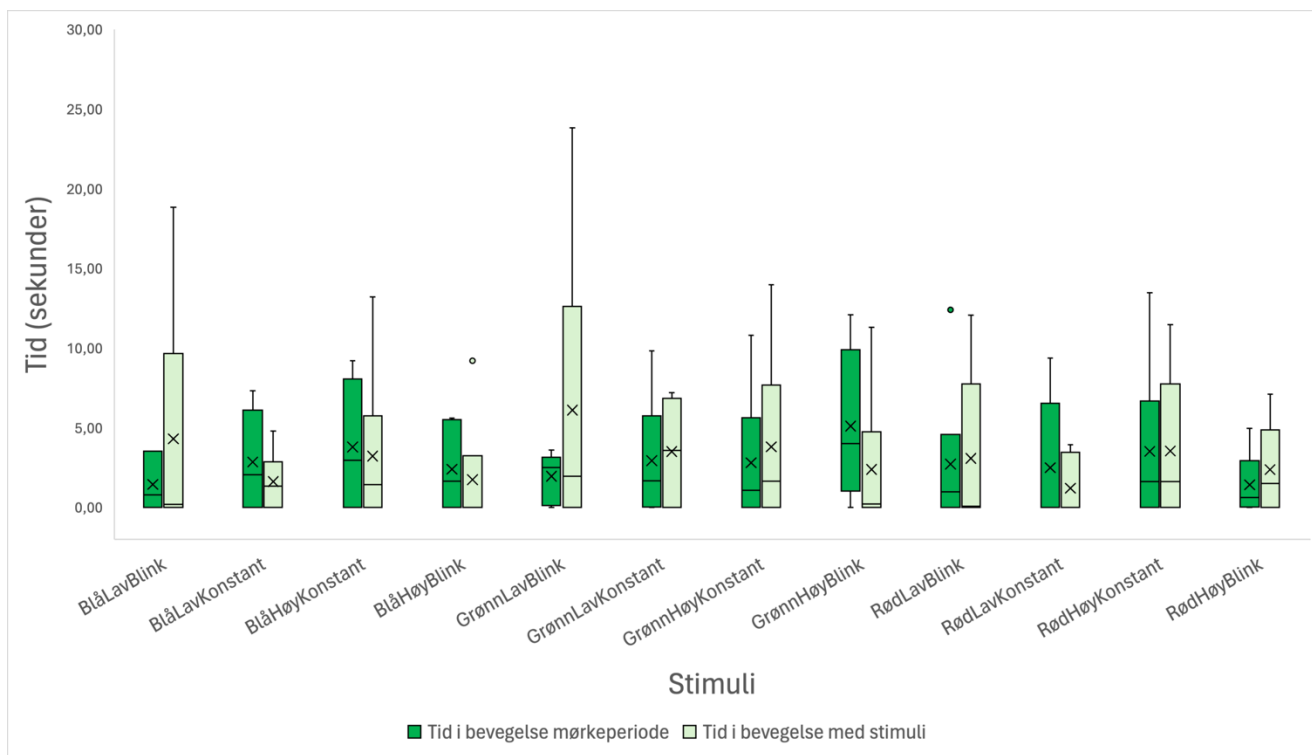
3.1.3 Tid i aktivitet for mørke og ulike kombinasjoner av stimuli

Figur 3.5 viser tid i aktivitet (sekunder) i 2 minutter mørkeperiode og 2 minutter med stimuli for voksne hunnlus testet mot ulike kombinasjoner av stimuli. Det ble påvist en signifikant økning (t-test, p-verdi<0,001) for tid i aktivitet med stimuli (alle stimuli samlet) sammenlignet med mørkeperioden (alle stimuli samlet). For individuell stimulus ble det påvist signifikant forskjell ved grønt, høy intensitet, konstant lys (t-test, p-verdi=0,035), grønt, høy intensitet, blinkende lys (t-test, p-verdi=0,013), blått, høy intensitet, konstant lys (t-test, p-verdi=0,012) og rødt, høy intensitet, konstant lys (t-test, p-verdi=0,041). De ulike faktorene (farge, intensitet og pulsering) viste ingen signifikant påvirkning på antall svømmeperioder som individuelle faktorer.

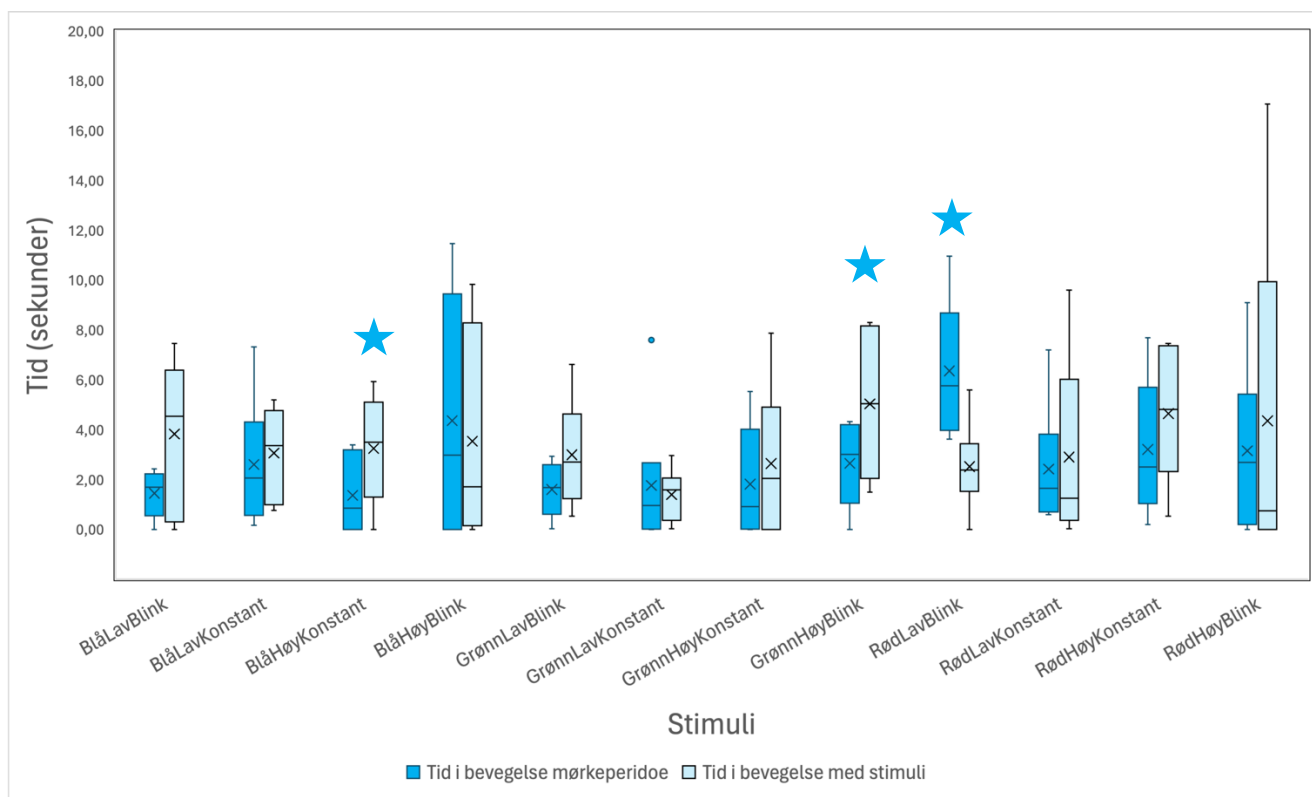


Figur 3.5: Boksplot for voksne hunner hvor antall sekunder i aktivitet er vist ved ulike kombinasjoner av stimuli for aktivitet i en 2 minutters mørkeperiode og 2 minutters periode med stimuli. Median (strek), gjennomsnitt (X) og stimuli som oppnådde signifikant forskjell (stjerne) er angitt i grafen.

Figur 3.6 viser tid i aktivitet (sekunder) for voksne hanner i 2 minutter mørkeperiode sammenlignet med tid i aktivitet (sekunder) i 2 minutter med stimuli ved å plote mot ulike kombinasjoner av stimuli. Det ble ikke funnet signifikant forskjell (t-test, p-verdi=0,68) mellom tid i aktivitet i mørkeperioden (alle stimuli samlet) og tid i aktivitet med stimuli (alle stimuli samlet). Verken de individuelle faktorene eller individuelle stimuli viste signifikant påvirkning på tid i aktivitet.



Figur 3.6: Boksplot for voksne hanner hvor antall sekunder i aktivitet er vist ved ulike kombinasjoner av stimuli for aktivitet i en 2 minutters mørkeperiode og 2 minutters periode med stimuli. Gjennomsnitt (X) og median (strek) er angitt.



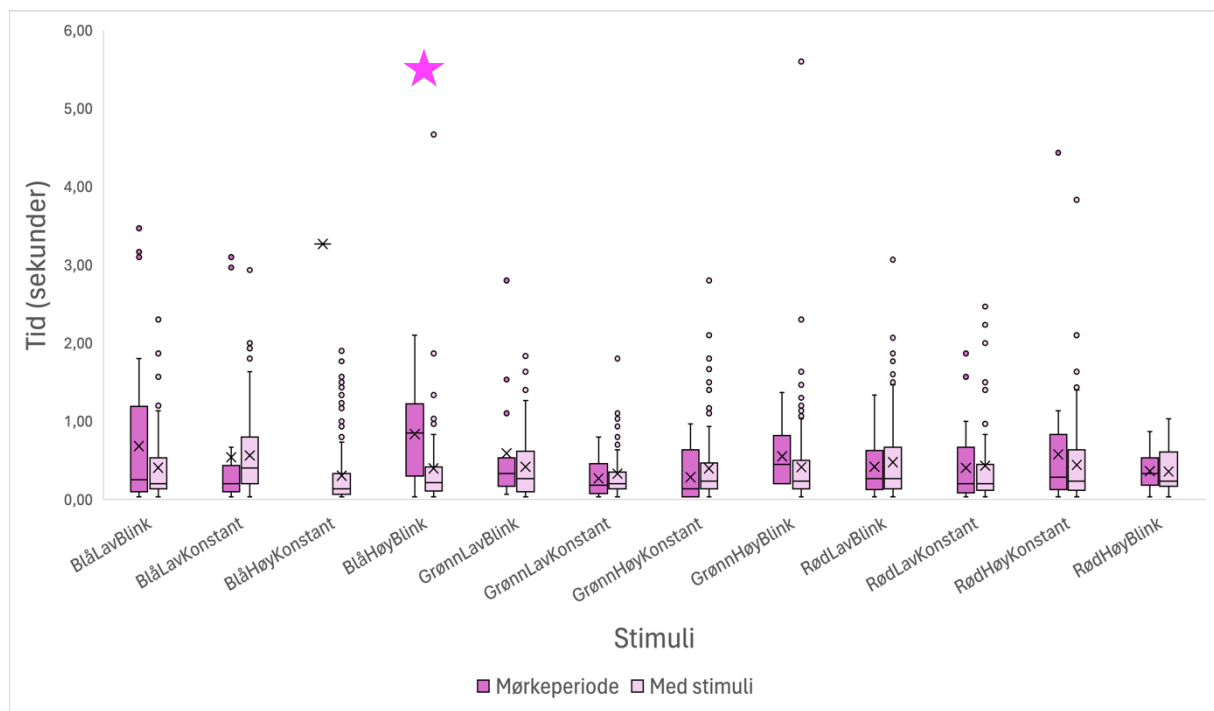
Figur 3.7: Boksplot for preadult 2 hunner hvor antall sekunder i aktivitet er vist ved ulike kombinasjoner av stimuli for aktivitet i 2 minutters mørkeperiode og 2 minutters periode med stimuli. Median (strek), gjennomsnitt (X) og stimuli som oppnådde signifikant forskjell (stjerne) er angitt i grafen.

Figur 3.7 viser tid i aktivitet (sekunder) for 2 minutter mørkeperiode og 2 minutter med stimuli for preadult 2 hunner, hvor antall sekunder er plottet mot ulike kombinasjoner av stimuli. Ingen signifikant forskjell (t-test, p-verdi=0,21) kunne påvises mellom mørkeperiode (alle stimuli samlet) og stimuli (alle stimuli samlet). Kun grønt, høy intensitet, blinkende lys (t-test, p-verdi=0,032), blått, høy intensitet, konstant lys (t-test, p-verdi=0,042) og rødt, lav intensitet, blinkende lys (t-test, p-verdi=0,037) viste signifikant forskjell for tid i aktivitet blant de individuelle stimuli. Faktorene (farge, intensitet og pulsering) viste ingen signifikant påvirkning på antall svømmeperioder som individuelle faktorer.

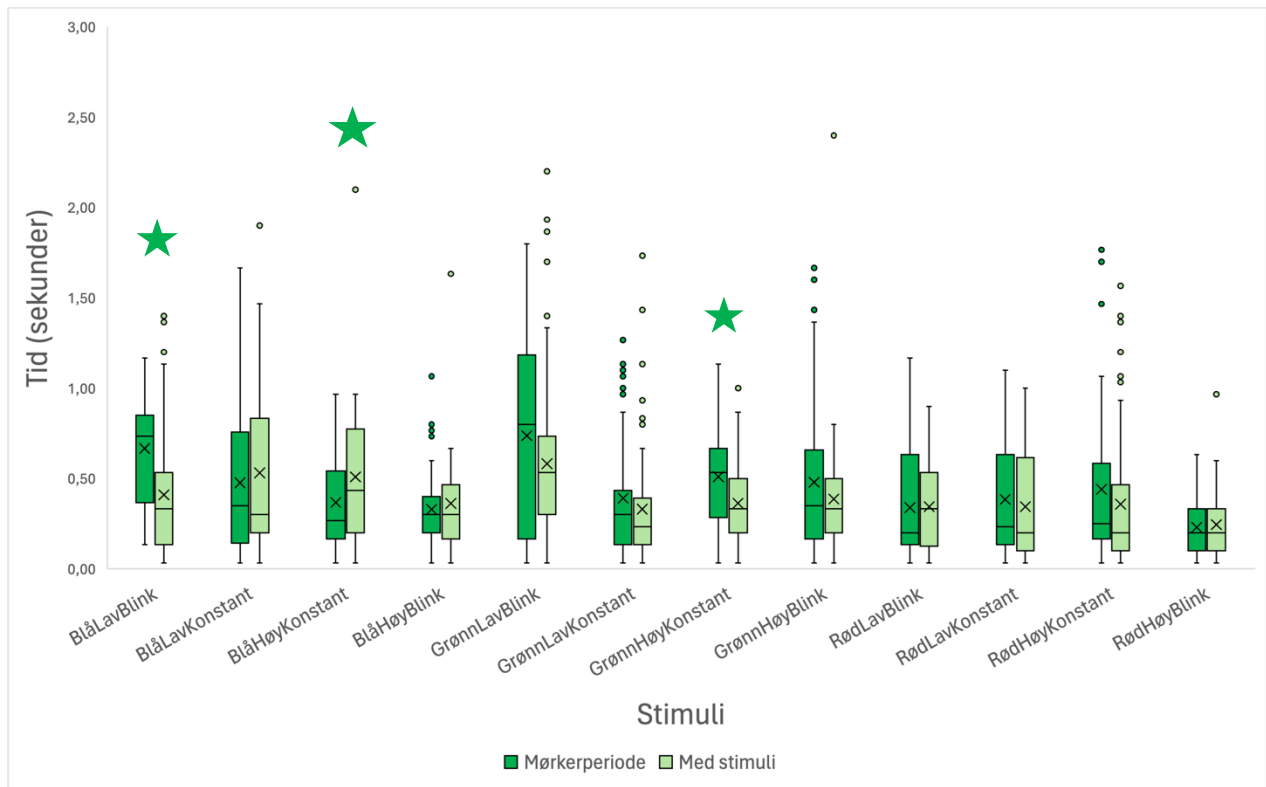
3.1.4 Varighet svømmeperioder for mørke og ulike kombinasjoner av stimuli

Figur 3.8 viser varigheten per svømmeperiode (sekunder) i mørkeperioden og med stimuli for ulike kombinasjoner av stimuli. Det ble påvist en signifikant forskjell (t-test, p-verdi=0,010) i varigheten mellom mørkeperioden (alle stimuli samlet) og stimuli (alle stimuli samlet). Gjennomsnittsverdiene (mørkeperiode: 0,53 og med stimuli: 0,41) tilsier at svømmeperiodene har lengere varighet i mørkeperioden. Kun blått, høy intensitet, blinkende lys hadde signifikant forskjell (t-test, p-verdi=0,001).

Blant faktorene (farge, intensitet, pulsering) hadde intensitet signifikant påvirkning (trefaktor ANOVA, p-verdi=0,008), samt interaksjonen mellom intensitet og farge (trefaktor ANOVA, p-verdi=0,014), og interaksjonen mellom farge, intensitet og pulsering (trefaktor ANOVA, p-verdi=0,028). Det ble videre påvist signifikant forskjell mellom lav og høy intensitet (Tukey's, HSD, p-verdi 0,007), hvor gjennomsnittsverdiene (lav: 0,46 og høy: 0,38) tilsier at varigheten øker ved lav intensitet.



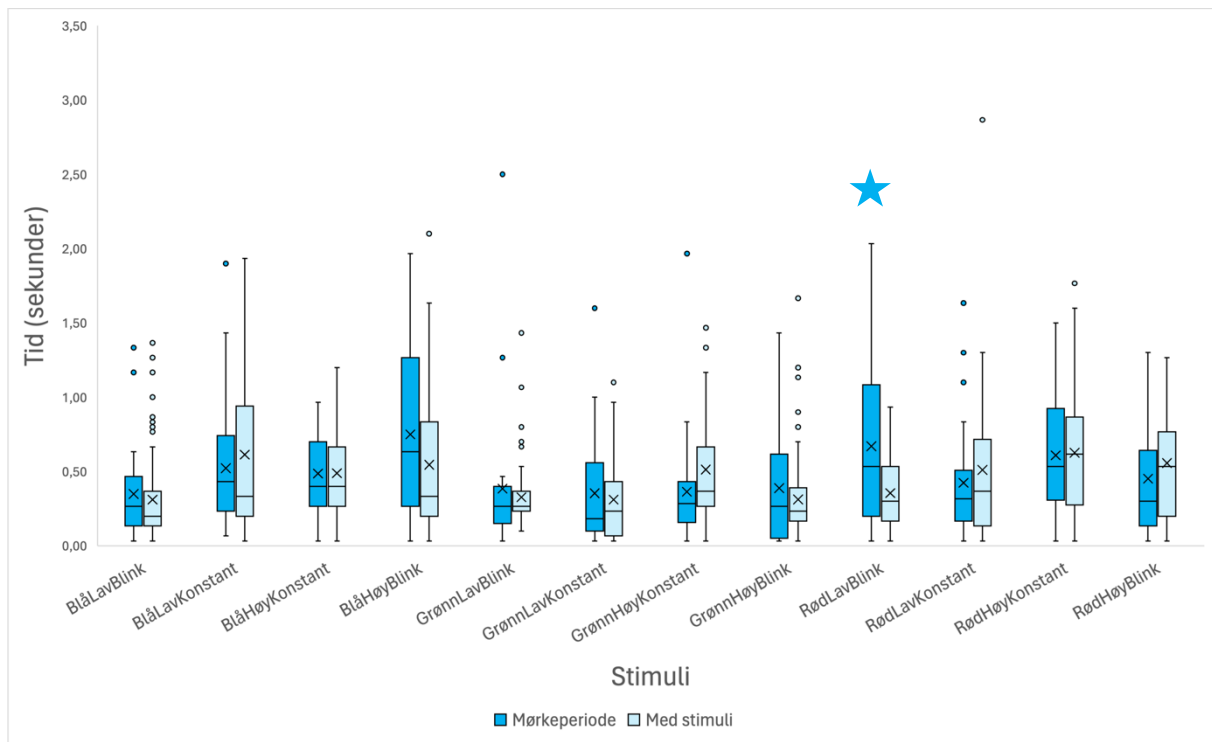
Figur 3.8: Boksplot som viser varighet for svømmeperioder (tid i sekunder) for voksne hunner plottet mot ulike kombinasjoner av stimuli for både mørkeperioden og perioden med stimuli. Median (strek), gjennomsnitt (X) og stimuli som oppnådde signifikant forskjell (stjerne) er angitt i grafen.



Figur 3.9: Boksplot som viser varighet for svømmeperioder (tid i sekunder) for voksne hanner plottet mot ulike kombinasjoner av stimuli for både mørkeperioden og perioden med stimuli. Median (strek), gjennomsnitt (X) og stimuli som oppnådde signifikant forskjell (stjerne) er angitt i grafen.

For voksne hanner er varigheten av svømmeperiodene (sekunder) under mørkeperioden sammenlignet med stimuli. Disse er vist ved ulike kombinasjoner av stimuli i figur 3.9. Det ble ikke funnet signifikant forskjell (t-test, p-verdi=0,28) mellom svømmeperiodene under mørkeperioden (alle stimuli samlet) sammenlignet med stimuli (alle stimuli samlet). Kun blått, lav intensitet, blinkende lys (t-test, p-verdi=0,010), blått, høy intensitet, konstant lys (t-test, p-verdi=0,025) og grønt, høy intensitet, konstant lys (t-test, p-verdi=0,005) viste signifikant påvirkning på varigheten av svømmeperiodene.

Av faktorene (farge, intensitet, pulsering) hadde intensitet (trefaktor ANOVA, p-verdi=0,040) og farge (trefaktor ANOVA, p-verdi=0,003) en signifikant påvirkning, samt interaksjonen mellom intensitet og pulsering (trefaktor ANOVA, p-verdi=0,007), og interaksjonen mellom farge og pulsering (trefaktor ANOVA, p-verdi=0,0002). Det ble videre påvist en signifikant forskjell mellom lav og høy intensitet (Tukey´s HSD, p-verdi 0,043), mellom blå og rød farge (p-verdi= 0,004) og mellom rød og grønn farge (p-verdi= 0,011). Gjennomsnittverdiene for varigheten av svømmeperiodene med stimuli (lav: 0,42 og høy: 0,36) og (rød:0,31, blå:0,44 og grønn:0,41) tilsier at varigheten øker ved lav intensitet, og med blå eller grønn farge sammenlignet med rød.



Figur 3.10: Boksplot som viser varighet for svømmeperioder (tid i sekunder) for preadult 2 hunner plottet mot ulike kombinasjoner av stimuli for både mørkeperioden og perioden med stimuli. Median (strek), gjennomsnitt (X) og stimuli som oppnådde signifikant forskjell (stjerne) er angitt i grafen.

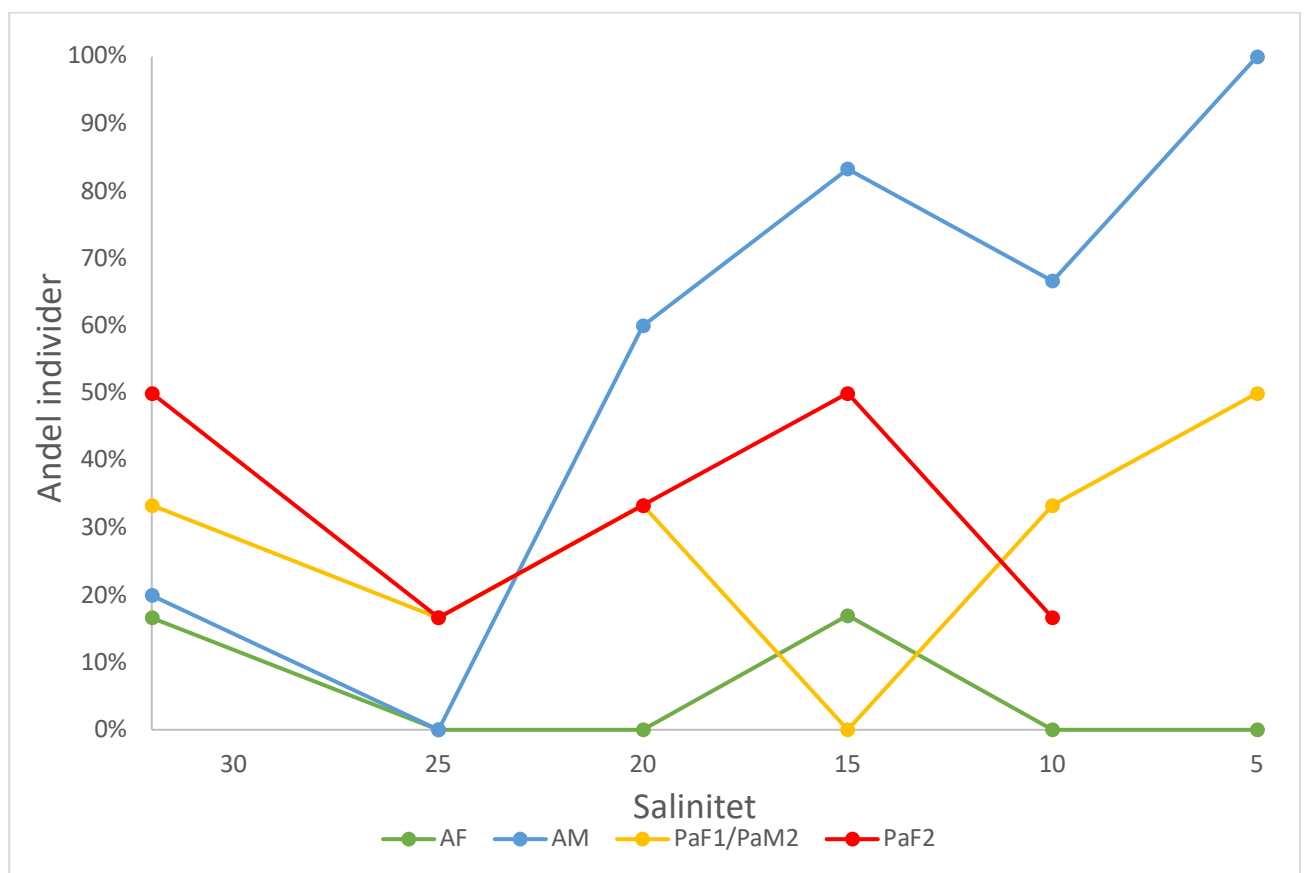
Figur 3.10 viser varigheten (sekunder) per svømmeperiode både for mørkeperioden og perioden med stimuli for preadult 2 hunner. Varigheten av svømmeperiodene er vist mot ulike kombinasjoner av stimuli. Det ble påvist en signifikant forskjell (t-test, p-verdi=0,016) mellom varigheten av svømmeperioden i mørkeperioden (alle stimuli samlet) sammenlignet med stimuli (alle stimuli samlet). Gjennomsnittsverdiene (mørkeperiode: 0,49 og med stimuli: 0,43) tyder på at svømmeperiodene er lengere i mørkeperioden. Kun rødt, lav intensitet, blinkende lys (t-test, p-verdi<0,001) hadde signifikant påvirkning på varigheten av svømmeperiodene.

Både farge (trefaktor ANOVA, p-verdi<0,001), intensitet (trefaktor ANOVA, p-verdi=0,004) og pulsering (trefaktor ANOVA, p-verdi<0,001) hadde signifikant påvirkning på varigheten av svømmeperiodene som individuelle faktorer. Dette gjaldt også interaksjonen mellom de tre faktorene (trefaktor ANOVA, p-verdi=0,001). Påfølgende post hoc test (Tukey´s HSD) påviste signifikant forskjell mellom grønn og blå (p-verdi=0,016) og mellom grønn og rød (p-verdi<0,001). Gjennomsnittsverdiene for farge (rød:0,51, grønn:0.34 og blå:0.44) tyder på at rød farge øker varigheten av svømmeperiodene mer enn grønn, og blå øker varigheten av svømmeperiodene mer enn grønn. For intensitet var det signifikant forskjell mellom lav og høy (Tukey´s HSD, p-verdi=0,004), gjennomsnittsverdiene tatt i betraktning (lav: 0,38 og høy:0,47) tyder det på at høy intensitet øker varigheten av svømmeperiodene. For pulsering ble det funnet signifikant forskjell mellom blink og konstant (Tukey´s HSD, p-verdi<0,001). Gjennomsnittsverdiene tatt i betraktning (konstant: 0,52 og blink: 0,37) øker varigheten av svømmeperiodene ved konstant lys.

3.2 Salinitetsrespons hos lakselus

3.2.1 Andel individer som beveger seg over haloklin

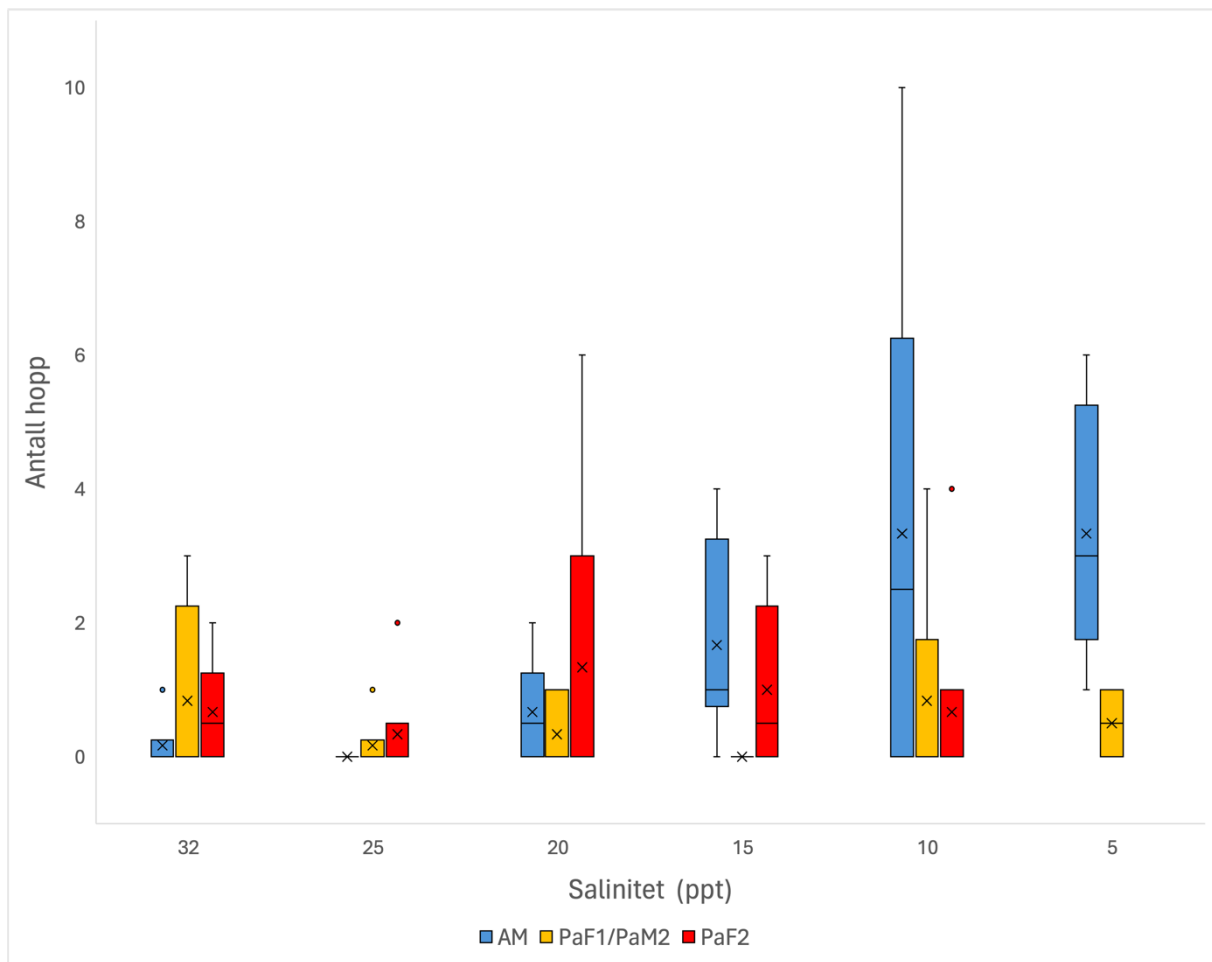
Figur 3.11 viser prosentandel individer av lakselus som beveget seg over haloklin ved de ulike salinitetene. De fleste forsøk ble gjennomført med 6 individer totalt, ved unntak av voksne hanner (kontroll, 25ppt og 20ppt) og voksne hunner (10ppt og 5 ppt) hvor det ble benyttet 5 individer per forsøk. Figuren viser en økning i andel voksne hanner som beveger seg inn i brakkevannslaget ved lavere saliniteter. For de minste stadiene preadult 2 hann/ preadult 1 hunn viser grafen en noe mindre økning enn for voksne hanner, med unntak av for 15 ppt. Preadult 2 hunner hadde en jevn andel individer over haloklin frem til 15 ppt. Preadult 2 hunner ble ikke testet for 5 ppt.



Figur 3.11: Andel individer som beveget seg over haloklin ved ulike saliniteter. Hver farge representerer en gruppe lakselus (Grønn – Voksne hunner (AF), Blå – Voksne hanner (AM), Gul – Preadult 1 hunn/ preadult 2 hann (PaF1/PaM2), Rød – Preadult 2 (PaF2)).

Under forsøket ble det observert at voksne hunnlus i all hovedsak synker mot bunnen og sjeldent svømmer opp igjen. Igjennom forsøket var det to individer voksne hanner funnet over haloklin, en ved kontroll (32 ppt) og en ved 15 ppt (se figur 3.11). Ettersom voksne hanner utviste såpass lite respons, ble de ikke inkludert i videre resultater.

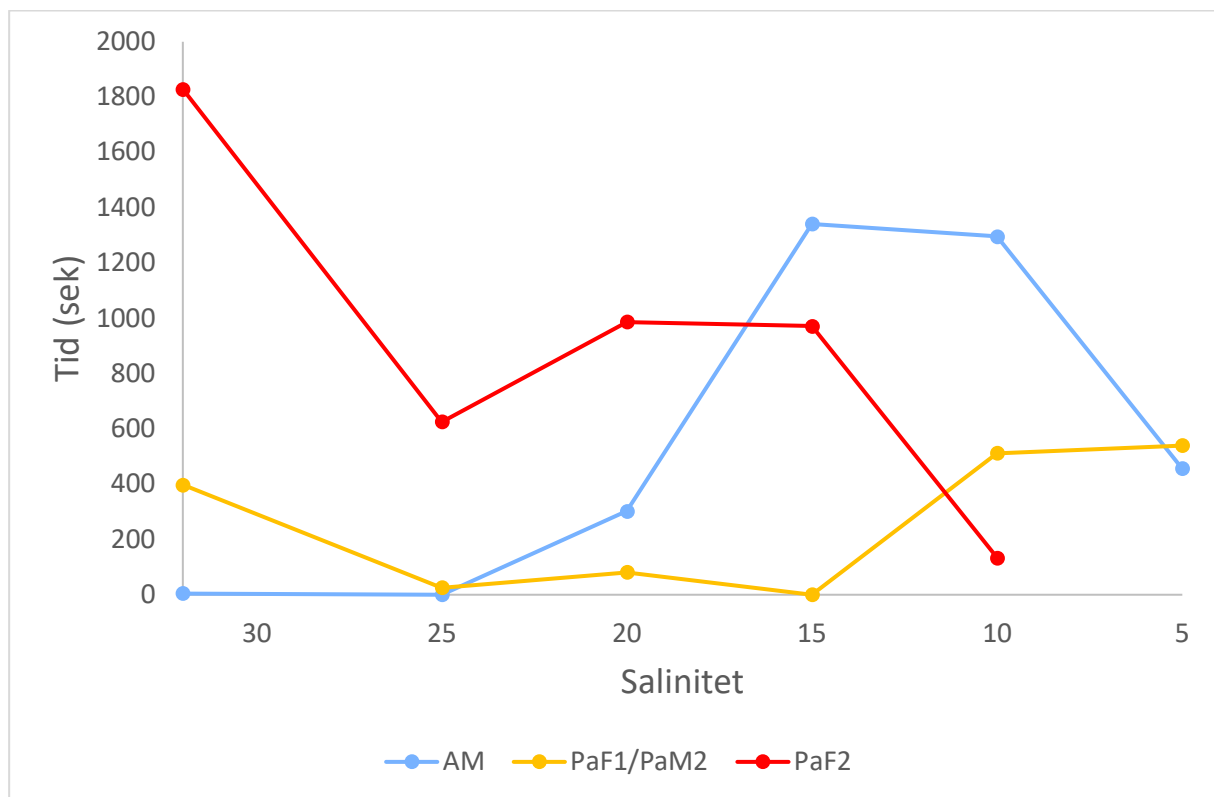
3.2.2 Antall hopp over haloklin



Figur 3.12: Antall hopp (antall ganger individet beveget seg over haloklin) observert over haloklin vist mot den aktuelle saliniteten. Figuren tar utgangspunkt i antall hopp gjort av hvert enkelt individ. Ulike farger representerer ulike grupper lakselus (Grønn – Voksne hunner (AF), Blå – Voksne hanner (AM), Gul – Preadult 1 hunn/ preadult 2 hann (PaF1/PaF2), Rød – Preadult 2 (PaF2)). Gjennomsnitt (X) og median (strek) er angitt.

Antall hopp (antall ganger individet beveget seg over haloklin) observert over haloklin ved ulike saliniteter er presentert i figur 3.12. Figur 3.12 tar utgangspunkt i antall hopp gjort av hvert enkelt individ. For voksne hanner viser figuren en økning i hopp ved lavere saliniteter som flater ut på et høyt nivå ved 10 ppt. For preadult 1 hunn/preadult 2 hann, holder antallet hopp seg lavt med høyeste antall hopp for kontroll (32 ppt) og 10 ppt. Det samme gjelder preadult 2 hunn, hvor antall hopp ligger lavt med en liten økning på 20 ppt før antallet synker igjen.

3.2.3 Tid brukt i brakkvannslaget



Figur 3.13: Tid (sekunder) av brukt i brakkvannslaget av alle individene totalt ved hver salinitet. Max tid per individ var 600 sekunder (3000-3600 sekunder per gruppe). Hver farge representere hver sin gruppe lakselus (Grønn – Voksne hunner (AF), Blå – Voksne hanner (AM), Gul – Preadult 1 hunn/ preadult 2 hann (PaF1/PaF2), Rød – Preadult 2 (PaF2)).

Total tid av max 3000-3600 sekunder per gruppe, som ble tilbragt i brakkvannslaget ved ulike saliniteter er fremstilt i figur 3.13. Figuren tar ikke hensyn til at noen individer brukte flere minutter i brakkvannslaget sammenlignet med få sekunder hos andre (tabell 3.1). Voksne hanner viser en gradvis økning i antall sekunder tilbragt i brakkvann etter hvert som saliniteten synker. Totaltiden for voksne hanner synker derimot fra 10 ppt til 5 ppt. Preadult 2 hunner viser en gradvis nedgang i tid tilbragt i brakkvann ved unntak av en økning ved 20 ppt og 15 ppt. For preadult 1 hunn/preadult 2 hann ligger totaltiden i brakkvann lavt før den stiger noe mot de laveste salinitetene.

Forsøket varte i 10 minutter og individene utviste stor individuell variasjon. Tabell 3.1 viser data for hvert enkelt individ som beveget seg over haloiklin ved de ulike salinitetene (minimum, maksimum, median, gjennomsnitt og standardavvik). Blant annet kommer det tydelig frem at et individ fra gruppen preadult 1 hunn/preadult 2 hann trekker snittet kraftig opp for 5 ppt ved å tilbringe 524,68 sekunder i brakkvann i motsetning til de to andre individene som brukte henholdsvis 7,88 og 6,88 sekunder.

Tabell 3.1: Oversikt over tid (s) av max 10 minutter brukt over haloklin ved de ulike salinitetene for alle individer (minimum, maksimum, median, gjennomsnitt og standardavvik).

Salinitet	Stadie	Min. Tid	Max. Tid	Median	Gjennomsnitt	Std.avvik
32‰	AM	4,98	4,98	4,98	4,98	0,00
20‰	AM	25,91	25,91	25,91	25,91	0,00
	AM	41,38	177,70	109,54	109,54	96,39
	AM	56,86	56,86	56,86	56,86	0,00
15‰	AM	11,40	276,69	24,31	84,18	128,58
	AM	6,20	430,12	101,21	179,18	222,45
	AM	403,00	403,00	403,00	403,00	0,00
	AM	39,33	39,33	39,33	39,33	0,00
	AM	24,38	24,38	24,38	24,38	0,00
10‰	AM	7,50	405,88	13,49	93,78	174,79
	AM	2,31	491,06	6,62	57,86	145,70
	AM	5,22	41,21	29,1	25,18	18,31
	AM	29,68	143,49	86,59	86,59	80,48
5‰	AM	2,38	4,33	3,36	3,36	1,38
	AM	7,52	74,73	15,29	24,30	25,14
	AM	20,13	20,13	20,13	20,13	0,00
	AM	5,78	8,38	6,73	6,96	1,32
	AM	11,80	58,05	15,02	23,89	19,39
	AM	3,50	74,19	65,90	47,86	38,64
32‰	PaM2/PaF1	7,58	59,16	33,37	33,37	36,47
	PaM2/PaF1	9,50	195,31	125,81	110,21	93,88
25‰	PaM2/PaF1	26,05	26,05	26,05	26,05	0,00
20‰	PaM2/PaF1	44,75	44,75	44,75	44,75	0,00
	PaM2/PaF1	35,94	35,94	35,94	35,94	0,00
10‰	PaM2/PaF1	14,22	77,37	27,00	36,00	29,00
	PaM2/PaF1	367,00	367,00	367,00	367,00	0,00
5‰	PaM2/PaF1	524,68	524,68	524,68	524,68	0,00
	PaM2/PaF1	7,88	7,88	7,88	7,88	0,00
	PaM2/PaF1	6,88	6,88	6,88	6,88	0,00
32‰	PaF2	145,19	474,24	309,72	309,72	232,67
	PaF2	561,81	561,81	561,81	561,81	0,00
	PaF2	647,49	647,49	647,49	647,49	0,00
25‰	PaF2	61,09	564,24	312,67	312,67	355,78
20‰	PaF2	3,05	341,87	26,23	81,82	131,17
	PaF2	2,86	492,72	247,79	247,79	346,38
15‰	PaF2	2,38	143,45	3,96	49,93	80,99
	PaF2	544,86	544,86	544,86	544,86	0,00
	PaF2	42,09	234,37	138,23	138,23	135,96
10‰	PaF2	5,27	94,52	16,87	33,38	41,40

3.3 Synkehastighet

Synkehastighet ble estimert for voksne hunnlus, voksne hannlus og preadult 2 hunner. Det ble estimert en gjennomsnittlig synkehastighet (\pm standardavvik) på $1,98 \pm 0,14$ cm/sek for voksne hunnlus, $1,11 \pm 0,086$ cm/sek for voksne hannlus og $1,03 \pm 0,15$ cm/sek for preadult 2 hunner.

4 Diskusjon

4.1 Lysrespons hos lakselus

Hensikten med lysresponsforsøket var å øke forståelsen av hvordan større stadier av lakselus uten vert responderer på ulike lysstimuli. Det ble gjort ved å henge opp individer av lakselus (voksne hunner, voksne hanner og preadult 2 hunner) og filme responsen individene hadde på ulike kombinasjoner av lysstimuli. Som resultat ble det funnet en signifikant økning i antall svømmeperioder og tid i aktivitet med stimuli sammenlignet med mørkeperioden for voksne hunner. Samtidig ble det funnet at svømmeperiodene var signifikant lengre ved mørkeperioden for voksne hunner. For voksne hanner ble det ikke funnet noen sammenhenger mellom aktivitet og lysstimuli verken for antall svømmeperioder, tid i aktivitet eller varigheten på svømmeperiodene. Preadult 2 viste en økning i antall svømmeperioder med stimuli sammenlignet med mørkeperioden for preadult 2 hunn, men ingen sammenheng mellom stimuli og tid i aktivitet ble funnet. For varigheten av svømmeperioden økte varigheten ved mørkeperioden sammenlignet med stimuli også for preadult 2 hunn.

4.1.1 Antall svømmeperioder med og uten stimuli

Voksne lakselus hadde tydelig respons på lysstimuli ved en økning i antall svømmeperioder. Dette gjaldt lys generelt da det ikke ble funnet noen signifikant effekt fra faktorene testet. Dermed vil det være mulig å anta at voksne hunnlus responderer på lys generelt uavhengig av farge, intensitet og pulsering. Av individuelle stimuli var det kun et fåtall som ga signifikant respons på antall svømmeperioder, som betyr at kun grønt, høy intensitet, blinkende lys og grønt, høy intensitet konstant lys har en påvisbar effekt på antall svømmeperioder. For de resterende kan manglende signifikant forskjell forklares med ingen respons hos voksne hunnlus eller for lite data.

Ut ifra resultatene antas det at voksne hunner vil trekke mot lyset i frie vannmasser, dermed også oppover i de fleste tilfeller da naturlig lys kommer oven i fra. Det kan derimot være verdt å merke seg at individene ikke hadde mulighet til å svømme vekk fra lyset, grunnet opplimingen med sytråd. Responsen kan blant annet sammenlignes med copepoditter av lakselus, hvor positiv fototaksis ble foreslått for å øke sannsynligheten for å møte en vert (Bron et al. 1993). Begrunnet med at laksen i all hovedsak oppholder seg i øvre vannmasser (Mo, 2024). Sammenlignes det med responsen voksne hunner utviste i lys, kan det antyde at også disse bruker lys for å finne en vert i øvre vannmasser.

Tidligere studier fant at voksne hunner utviste lysrespons ved hvitt lys av ulike intensiteter (Flamarique et al. 2000). Det sammenfaller med responsen som ble funnet i denne oppgaven, men Flamarique et al. (2000) skilte på av og på respons (responsen utvist når lyset ble slått av eller på) og konkluderte med at av-responsen var høyere enn på-responsen. Det blir ikke hensyntatt i denne oppgaven ettersom analysen begrenset seg til å kun benytte 2 minutter mørkeperiode og 2 minutter med stimuli. Minuttene etter stimuli ble fjernet, grunnet problemer med at lyskilden ikke skrudde seg av til gitt tidspunkt ved høye intensiteter og konstant lys.

Preadult 2 hunn hadde en signifikant økning i antall svømmeperioder med stimuli sammenlignet med mørkeperioden. Det gjaldt lys generelt, men resultatene tilsa en økning spesielt for blinkende lys sammenlignet med konstant lys. Det kan bety at selv om preadult 2 hunner responderer med økt antall svømmeperioder på lys generelt så har blinkende lys en større effekt enn konstant lys. Blant individuelle stimuli hadde blå, lav intensitet, blinkende lys signifikant økning i antall svømmeperioder med stimuli. Resterende stimuli hadde ingen signifikant forskjell som kan tyde på ingen respons eller for lite data.

Preadult 2 hunn hadde ikke en like tydelig forskjell på antall svømmeperioder med stimuli sammenlignet med mørkeperioden som hos voksne hunner. Dette kan ses i p-verdien som ligger nært signifikansnivået. Det kan bety at preadult 2 hunner ikke utviser en like sterk respons på lys som voksne hunner, men har allikevel en respons. Responsen kan minne om at også disse bruker lys for å finne en vert på lik linje med voksne hunner og copepoditter (Bron et al. 1993). Men at preadult 2 hunn også er mer tilpasset å finne en vert basert på små lysglimt fra fiskeskjell enn voksne hunner, lignende adferd ble foreslått av Flamarique et al. (2000) for copepoditter.

For voksne hanner ble det ikke funnet tegn til økt aktivitetsnivå ved lysstimuli ved antall svømmeperioder. Det gjaldt både på generell basis og ved å skille på de ulike faktorene. Det antyder at det ikke er noen lysrespons for voksne hanner. For individuelle stimuli viste blått, lav intensitet, konstant lys å ha signifikant påvirkning på antall svømmeperioder, men signifikansen viste at antall svømmeperioder økte i mørkeperioden. Det betyr at voksne hanner ikke responderer med økt aktivitet ved blått, lav intensitet, konstant lys. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller for andre individuelle stimuli som kan tyde på ingen respons eller for få data.

Tidligere studier inkluderte ikke hanner i forsøkene sine så dermed finnes det lite sammenligningsmateriell. Sammenlignes responsen til voksne hanner med planktoniske stadier slik som copepoditter, viser copepodittene en tydelig positiv fototaksis (Flamarique et al 2000). Copepodittene er stadiet hvor lakselus skal finne en vert i livssyklusen (Pike et al. 1991, Crosbie et al. 2020) og responsen kobles dermed mot ønske om å finne en passende vert (Bron et al. 1993). Voksne hanner som har mistet sin vert vil også ha behov for å finne en ny vert på samme måte som copepoditter, men forsøket kunne ikke konkludere med at lys benyttes for å finne en vert med det aktuelle datasettet.

En mulig forklaring på hvorfor det ikke ble funnet signifikant forskjell hos voksne hanner er manglende data. En større andel individer blant voksne hanner hadde null respons både i mørkeperioden og med stimuli sammenlignet med voksne hunner og preadult 2 hunn. Dette skyldtes trolig at voksne hanner ble hengende for lenge i forhold til hva de tålte. Voksne hanner ble hengende igjennom 6 stimuli på lik linje med voksne hunner, men resultatene i ettertid viste at voksne hanner hadde mindre respons etter å ha hengt igjennom noen runder med stimuli. Det kommer tydelig frem fra grafene produsert av Pycharm (se eksempel i figur 2.3).

4.1.2 Tid i aktivitet i aktivitet og med ulike kombinasjoner av lysstimuli

Voksne hunner utviste en økning i tid i aktivitet for perioden med stimuli som støtter opp funnene i 4.1.1. Kun et fåtall individuelle stimuli ga signifikant forskjell mellom stimuli og mørkeperioden, som tilsier at mer forskning på området er nødvendig. Det samme gjelder voksne hanner og preadult 2 hunn hvor det ikke ble funnet signifikant forskjell mellom mørke og stimuli, ved unntak av et fåtall individuelle stimuli for preadult 2 hunn.

4.1.3 Varighet for svømmeperioder i mørke og med ulike kombinasjoner av lysstimuli

Varigheten av svømmeperiodene var lengre i mørkeperioden sammenlignet med perioden med lysstimuli for voksne hunner, men intensitet hadde allikevel en påvirkning på lengden under periodene med lysstimuli. Varigheten av svømmeperiodene var lengre ved lave intensiteter sammenlignet med høye. Dette kan ha sammenheng med naturlige lysforhold da intensiteten blir lavere på dypere vann, som kan tyde på at voksne hunnlus kan bruke lysforhold til å navigere seg i omgivelsene og oppfatte hvor den befinner seg i vannmassene. I denne sammenhengen tyder det på at voksne hunnlus reagerer med lengre svømmeperioder på dypere vann. En mulig forklaring er et ønske om å komme seg oppover i vannmassene da sjansene for å finne en vert er større, men dette krever videre forskning. Det er derimot verdt å merke seg at interaksjonen mellom farge, intensitet og pulsering hadde signifikant påvirkning på varigheten som gjør det nødvendig å undersøke dette videre.

Svømmeperiodene hos voksne hanner var signifikant kortere ved grønt, høy intensitet, konstant lys og blått, lav intensitet, blinkende lys sammenlignet med mørkeperioden. Det ble ikke funnet signifikant forskjell for helheten. Faktorene (farge og intensitet) påvirket varigheten av svømmeperiodene, hvor rød farge og høy intensitet reduserer varigheten. Etersom rødt lys absorberes ved overflaten (NOAA, 2019) hvor intensiteten av lys gjerne er høyere, kan det tyde på at voksne hanner også bruker lys til å navigere mot overflaten. I likhet med voksne hunner tyder dette på at voksne hannlus også har lengre svømmeperioder ved lysforhold som tilsvarer dype vannmasser.

Varigheten på svømmeperiodene ble redusert med stimuli hos preadult 2 hunn. Både farge, intensitet og pulsering hadde en signifikant påvirkning på varigheten med lysstimuli. Her ble det funnet at faktorer forbundet med overflaten øker varigheten, da høy intensitet og konstant lys var signifikant høyere enn lav intensitet og blinkende lys. Det samme gjaldt farge hvor rødt lys ga lengre varighet enn grønt lys. Det tyder på at preadult 2 hunn har lengre svømmeperioder ved overflaten, noe som tyder på at preadult 2 hunn responderer ulikt på lysforhold enn voksne hanner og hunner.

4.1.4 Temperaturen under utføringen av forsøket

Klimarommet ble aldri temperatur regulert. Dermed ble forsøket gjennomført i romtemperatur. Vannet som ble brukt holdt rundt 10 °C når det ble hentet fra klekkeriet, så de første forsøksrundene hadde kaldere temperatur enn når vannet hadde stått noen dager. Problemet ble ikke oppdaget før på slutten av forsøksperioden og vanntemperaturen ble dermed ikke målt før mot slutten forsøket. Temperaturen på slutten av forsøket ble målt til ca. 17 °C. Ifølge Hamre et al. (2019) utvikler lakselus seg normalt fra 6°-21 °C som betyr at en temperatur på 17 °C ikke er skadelig for individene. 17 °C er derimot ikke den temperaturen sjøvann holder store deler av året, og ettersom det ikke finnes noen studie på hvordan parasittiske stadier av lakselus atferdsmessig responderer på ulike temperaturer, er det ikke mulig å si om dette kan ha påvirket resultatene.

4.2 Salinitetsrespons hos lakselus

Hensikten med å teste salinitetsrespons hos større stadier av lakselus var å øke forståelsen rundt hvordan lakselus uten vert responderer på vannmasser med ulike saliniteter. Dette ble gjort ved å filme lakselus i et akvarium hvor det øvre laget var av en lavere salinitet og analysere responsen de utviste. For voksne hunner ble det ikke funnet noen svømmerespons, og dermed kan det ikke trekkes noen sammenhenger mellom salinitet og adferd. De andre stadiene (voksne hanner, preadult 1 hunn/preadult 2 hann og preadult 2 hunn) viste en adferd som tyder på at de ikke velger å unngå lave saliniteter. Men grunnet utfordringer rundt forsøksoppsettet kreves det mer forskning på området for å kunne trekke en konklusjon.

4.2.1 Andel individer som beveger seg over haloklin

Som kort nevnt i kapittel 3.2.1 var ikke voksne hunnlus aktive i forsøksoppsettet som ble valgt. Etter å ha blitt tilsatt akvariet sank individene til bunnen og ble værende i det nederste sjiktet med saltvann. Til tross for lysstimuli var det ikke mulig å få voksne hunnlus til å bevege seg mot brakkevannslaget. Det ble foreslått at alder kunne ha en innvirkning på resultatet, men ettersom kontrollen (32 ppt) ble kjørt på nytt med en yngre generasjon med samme resultat, kan ikke dette bekreftes. Det er dermed ikke mulig å trekke noen slutninger om adferdsrespons basert på eksisterende data.

For de gjenværende stadiene lykkes forsøket med å få individene opp mot og over haloklin, derimot med stor variasjon. Lakselus er marine dyr, dermed antas det at de vil unngå brakkevannlag med lave saliniteter til fordel for saltvann. Resultatene avviker noe med denne påstanden, da det ble observert en høy andel individer over haloklin både for voksne hanner og preadult 1 hunn/ preadult 2 hann ved lave saliniteter. For preadult 2 hunn er andelen individer over haloklin høyest ved 15 ppt, og synker noe mot 10 ppt. Det antyder at lakselus ikke unngår lave saliniteter som først antatt.

Overlevelsesforsøk viser at preadult 2 og copepoditter sin evne til å overleve i vannmasser øker med stadium (Andrews et al. (2020)). Predult 2, uavhengig av opprinnelse, viste ingen økt dødelighet før saliniteten lå rundt 5 ppt (Andrews et al. (2020)). Preadult 2 hunn ble ikke testet for 5 ppt så det er ikke mulig å si om stadiet ville unngått den laveste saliniteten. For preadult 1 hunn/ preadult 2 hann er derimot andelen individer over haloklin høyest ved den laveste saliniteten noe som strider mot resultatene til Andrews et al. (2020) da dødeligheten begynte å øke rundt denne saliniteten. Det kan forklares med at forsøkene til Andrews et al. (2020) ble utført over 24 timer kontra 10 minutter i denne oppgaven. Det gir en indikasjon på at preadult 1 hunn/ preadult 2 hann ikke unngår lave saliniteter over kortere tidsrom, men flere undersøkelser er nødvendig for å bekrefte.

Crosbie et al (2019) gjennomførte adferdsforsøk på planktoniske stadier (nauplier og copepoditter) ved ulike saliniteter. Her ble det funnet at begge stadiene unngikk lave saliniteter når de fikk valget. Noe som kan bety at de velger å unngå lave saliniteter fordi de tåler det dårlig. Det er derimot ikke utført sammenlignbare adferdsforsøk på preadult og voksne stadier. For voksne hanner og preadult 1 hunn/ preadult 2 hann tyder derimot resultatene på at parasittiske stadier ikke unngår lave saliniteter på samme måte. En mulig forklaring er stadienes natur, da de planktoniske stadiene (nauplie og copepoditt) anses som frittlevende (Crosbie et al. 2020, Poppe 1999) og har dermed ikke samme fordel av å tåle lave saliniteter som parasittiske stadier. Blant annet vil lakselus som tåler lave saliniteter ha en evolusjonær fordel, da sjørret (*Salmo trutta*) endrer migrasjonsmønster i takt med lusetrykket og aktivt søker ferskvann ved høyt lusetrykk (Halttunen et al. 2017).

For kontroll gruppen og 25 ppt tilsa resultatene at verken voksne hanner eller preadult 1 hunn/preadult 2 hann hadde noen interesse av å bevege seg over haloklin. Kontrollgruppen hadde samme salinitet som saltvannslaget så det er vanskelig å se noen biologisk forklaring på hvorfor individene ikke beveget seg over haloklin. For voksne hanner er det en mulig forklaring at de første gruppene med lus (kontroll, 25 ppt og 20 ppt) var av en eldre generasjon, og ble stående i klekkeriet lenge sammenlignet med de andre gruppene (15 ppt, 10 ppt og 5 ppt). Dette kan ha betydd at individene var slitne ved forsøksstart og dermed ikke beveget seg mot lyset. For preadult 2 beveget 50% av individene seg over haloklin, men også her observeres en nedgang ved 25 ppt noe som trolig skyldes at individene ikke ble skiftet ut mellom kontroll og 25 ppt. Det kan tyde på at varigheten av forsøket spiller like mye inn å svømmeresponsen som saliniteten gjør.

4.2.2 Antall hopp over haloklin

Det ble observert en stor variasjon i antall hopp. Voksne hanner utfører et stort antall hopp over haloklin for de lavere salinitetene, da spesielt salinitet 10 ppt. Preadult 1 hunn/ preadult 2 hann viser en jevn mengde hopp over haloklin over de ulike salinitetene ved unntak av 25 ppt og 15 ppt. Preadult 2 hunn har størst antall hopp ved salinitetene 15 ppt og 20 ppt. Antall hopp over haloklin henger nøye sammen med andel individer, da et større antall individer som beveger seg over haloklin vil resultere i en stor mengde hopp. Særlig tydelig er dette for preadult 1 hunn/preadult 2 hann og preadult 2 hunn hvor antall hopp følger samme trend som andel individer.

Antallet hopp som gjennomføres av voksne hanner ved lavere saliniteter følger ikke samme trend som andelen individer. Andelen individer er høyst ved 5 ppt, men antallet hopp for samme salinitet er lavere enn for salinitet 10 ppt. Det kan tyde på at individene ikke ønsker å returnere til den lave saliniteten etter å ha oppdaget den, og at til tross for økt toleranse ovenfor ferskvann hos voksne hannlus, vil de foretrekke å oppholde seg i saltvann. Derimot er det verdt å merke seg av forsøkene ble utført på et lavt antall individer (5-6stk) som gjør resultatene sårbare for individuell variasjon.

4.2.3 Tid brukt i brakkvannslaget

Tiden brukt i brakkvannslaget varierte veldig fra få sekunder til flere minutter. For preadult 2 er det en tydelig nedgang i tiden brukt i brakkvann fra kontroll og ned mot salinitet 10 ppt (dersom vi ekskluderer 25 ppt). Voksne hanner viser motsatt trend og øker tiden brukt i brakkvannslag mot de lavere salinitetene (15 ppt og 10 ppt) før totaltiden igjen går ned ved 5 ppt. Preadult 1 hunn/preadult 2 hann har en nedgang i totaltid i brakkvann frem til 10 ppt hvor tiden øker igjen. Selv om også totaltiden i brakkvann henger sammen med andelen individer og antall hopp som utføres over haloklin, vil det også kunne si noe om lakselus blir værende i brakkvann eller om de kun utfører små hopp.

Voksne hanner tilbringer lite tid i den laveste saliniteten sammenlignet med 15 ppt og 10ppt. Det forsterker refleksjonene fra 4.2.2 om at individene foretrekker å oppholde seg i saltvann når valget blir gitt. For preadult 1 hunn/ preadult 2 hann og preadult 2 hunn følger resultatet i stor grad samme trend som andel individer og antall hopp over haloklin.

Generelt for alle stadiene testet, er tiden brukt i brakkvann svært påvirket av individuell variasjon, da enkelt individer som blir værende i brakkvannslaget lenge trekker opp totaltiden. En mulig løsning er å kjøre flere runder av samme salinitet på samme stadie for å øke antallet individer og dermed antallet replikat.

4.3 Synkehastighet

Synkehastighet ble målt som et tillegg til salinitetsforsøket, og det ble dermed ikke kjørt noe eget forsøk kun for å måle synkehastighet. Det ble utført ved å bruke kontroll gruppen i salinitetsforsøket, hvor individene ofte sank etter tilsetning, til å regne ut en synkehastighet. Gjennomsnittlig synkehastighet (\pm standardavvik) ble estimert til $1,98 \pm 0,14$ cm/sek for voksne hunnlus, $1,11 \pm 0,086$ cm/sek for voksne hannlus og $1,03 \pm 0,15$ cm/sek for preadult 2 hunner. Noe som tilsier at voksne hunnlus synker raskere enn voksne hannlus og preadult 2.

Ut ifra observasjoner gjort under salinitetsforsøket ble det tydelig at voksne hunnlus synker i stillestående vann. De synker ikke nødvendigvis konstant rett ned, men mer i en rykk og napp bevegelse. Oppedal et al. (2024) fant liggende resultater, lakselus som faller av under trening synker. Dermed er det interessant å vite hvor raskt de synker. Basert på resultatene kommer det frem at voksne hunner synker opp mot en 1cm raskere enn voksne hanner, og preadult 2 hunn synker noe saktere enn voksne hanner. Det antas at størrelsen på stadiene er avgjørende for synkehastighet, ettersom en voksne hunnlus er dobbelt så stor som en voksen hannlus (Mo, 2024).

Oppedal et al (2024) utførte en liggende studie som ble presentert under Lusekonferansen 2024, hvor synkehastigheten ble satt til 0,5-1,5 cm/sek. Stadiene som Oppedal et al. (2024) undersøkte var preadult 1, preadult 2 hann, preadult 2 hunn, voksen hann og voksen hunn. Figuren presentert under konferansen viser at også Oppedal et al. (2024) fant økende synkehastighet hos større stadier.

5 Konklusjon

I denne studien ble det satt fokus på adferdsresponser hos parasittiske stadier av lakselus uten vert. I første del av studien ble lysrespons testet for voksne hunner, voksne hanner og preadult 2 hunn. Studien konkluderer med at voksne hunner og preadult 2 hunner responderer på lystimuli. Særlig er dette tydelig for voksne hunner hvor det ble funnet økt tid i aktivitet med lystimuli til tross for lengere svømmeperioder i mørkeperioden. Det kan tyde på at voksne hunner og preadult 2 hunn benytter lys til å søke etter en ny vert i øvre vannmasser hvor laksen som oftest befinner seg. Lysresponsen for voksne hunner skjedde uavhengig av farge, intensitet og bevegelse, men for preadult 2 hunn ble det påvist en økt respons for blinkende lys som tyder på økt sensitivitet for korte lysblink som kan skapes av fiskeskjell. Få individuelle stimuli ga signifikant resultat når man sammenlignet med mørkeperioden. Dermed er det behov for ytterligere undersøkelser. Ingen respons ble funnet hos voksne hanner.

I andre del av studien ble respons på lave saliniteter testet for voksne hunner, voksne hanner, preadult 1 hunn/preadult 2 hann og preadult 2 hunn. Ingen konklusjon angående svømmeadferd ved lave saliniteter kan dras grunnet for lite data og et ikke-gunstig forsøksdesign. Det anbefales og se på muligheter for å undersøke dette videre. For synkehastighet konkluderes det med at større individer av lakselus synker raskere enn de mindre.

Referanser

- Aaen, S.M., Helgesen, K.O., Bakke, M.J., Kaur, K. and Horsberg, T.E. (2015). Drug resistance in sea lice: a threat to salmonid aquaculture. *Trends in Parasitology*, [online] 31(2), pp.72–81. doi:<https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.12.006>.
- Andrews, M. and Horsberg, T.E. (2020). Sensitivity towards low salinity determined by bioassay in the salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae). *Aquaculture*, 514, p.734511. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734511>.
- Brækkan, E.H. and Aandahl, P.T. (2022). *Sjømateksperten passerte 120 milliarder kroner i fjor*. [online] seafood.no. Available at: <https://seafood.no/aktuelt/nyheter/sjomateksperten-passerte-120-milliarder-kroner-i-fjor/> [Accessed 19 Jan. 2023].
- Bron, J.E., Sommerville, C. and Rea, G.H. (1993). Aspects of the behaviour of copepodid larvae of the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837). In: G.A. Boxshall and D. Defaye, eds., *Pathogens of Wild and Farmed Fish: Sea lice*. [online] New York: Ellis Horwood, pp.125–142. Available at: [https://books.google.no/books?hl=no&lr=&id=e9KP0mkBuTAC&oi=fnd&pg=PA125&dq=Bron,+J.+E.,+Sommerville,+C.+and+Rae,+G.+H.+ \(1993\).+Aspects+of+the+behaviour+of+copepodid+larvae+of+the+salmon+louse+Lepeophtheirus+salmonis+\(Kr%C3%B8yer,+1837\).+In+Pathogens+of+Wild+and+Farmed+Fish:+Sea+lice+\(ed.+G.+A.+Boxshall+and+D.+Defaye\),+pp.+125%E2%80%93142.+New+York:+Ellis+Horwood.&ots=tQu2xgln-0&sig=gZunXn9XIxjKs9JRImfYmxJ6TM&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.no/books?hl=no&lr=&id=e9KP0mkBuTAC&oi=fnd&pg=PA125&dq=Bron,+J.+E.,+Sommerville,+C.+and+Rae,+G.+H.+ (1993).+Aspects+of+the+behaviour+of+copepodid+larvae+of+the+salmon+louse+Lepeophtheirus+salmonis+(Kr%C3%B8yer,+1837).+In+Pathogens+of+Wild+and+Farmed+Fish:+Sea+lice+(ed.+G.+A.+Boxshall+and+D.+Defaye),+pp.+125%E2%80%93142.+New+York:+Ellis+Horwood.&ots=tQu2xgln-0&sig=gZunXn9XIxjKs9JRImfYmxJ6TM&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false) [Accessed 19 May 2024].
- Burrige, L., Weis, J.S., Cabello, F., Pizarro, J. and Bostick, K. (2010). Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture*, [online] 306(1-4), pp.7–23. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.05.020>.
- Crosbie, T., Wright, D., Oppedal, F., Dalvin, S., Myksvoll, M. and Dempster, T. (2020). Impact of thermoclines on the vertical distribution of salmon lice larvae. *Aquaculture Environment Interactions*, 12, pp.1–10. doi:<https://doi.org/10.3354/aei00344>.
- Crosbie, T., Wright, D., Oppedal, F., Johnsen, I., Samsing, F. and Dempster, T. (2019). Effects of step salinity gradients on salmon lice larvae behaviour and dispersal. *Aquaculture Environment Interactions*, 11, pp.181–190. doi:<https://doi.org/10.3354/aei00303>.
- Dempster, T., Overton, K., Bui, S., Stien, L., Oppedal, F., Karlsen, Ø., Coates, A., Phillips, B. and Barrett, L. (2021). Farmed salmonids drive the abundance, ecology and evolution of

parasitic salmon lice in Norway. *Aquaculture Environment Interactions*, 13, pp.237–248.
doi:<https://doi.org/10.3354/aei00402>.

Erkinharju, T., Dalmo, R.A., Hansen, M. and Seternes, T. (2020). Cleaner fish in aquaculture: review on diseases and vaccination. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), pp.189–237.
doi:<https://doi.org/10.1111/raq.12470>.

Fiskeridirektoratet (2020). *Statistikk for akvakultur 2019*. [online] *fiskeridir.no*, Norge: Fiskeridirektoratet, pp.0–46. Available at: <https://www.fiskeridir.no/Akvakultur/Tall-og-analyse/Statistiske-publikasjoner> [Accessed 10 Feb. 2024].

Forseth, T., Fiske, P. and Thorstad, E.B. (2020). *Status of wild Atlantic salmon in Norway 2020 Norwegian Scientific Advisory Committee for Atlantic Salmon*. [online] Available at: <https://vitenskapsradet.no/Portals/vitenskapsradet/Pdf/Status%20of%20wild%20Atlantic%20salmon%20in%20Norway%202020T.pdf?ver=5edE21dH2DFOaPNai04Uig%3D%3D>.

Halttunen, E., Gjelland, K-Ø., Hamel, S., Serra-Llinares, R-M., Nilsen, R., Arechavala-Lopez, P., Skarðhamar, J., Johnsen, I.A., Asplin, L., Karlsen, Ø., Bjørn, P-A. and Finstad, B. (2017). Sea trout adapt their migratory behaviour in response to high salmon lice concentrations. *Journal of Fish Diseases*, 41(6), pp.953–967.
doi:<https://doi.org/10.1111/jfd.12749>.

Hamre, L., Bui, S., Oppedal, F., Skern-Mauritzen, R. and Dalvin, S. (2019). Development of the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* parasitic stages in temperatures ranging from 3 to 24°C. *Aquaculture Environment Interactions*, 11, pp.429–443.
doi:<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. and Skern-Mauritzen, R. (2013). The Salmon Louse *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae) Life Cycle Has Only Two Chalimus Stages. *PLoS ONE*, 8(9), p.e73539.
doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073539>.

Holan, A.B., Roth, B., Breiland, M.S.W., Kolarevic, J., Hansen, Ø.J., Iversen, A., Hermansen, Ø., Gjerde, B., Hatlen, B., Mortensen, A., Lein, I., Johansen, L.-H., Noble, C., Gismervik, K. and Olofsdotter, M. (2017). *Beste praksis for medikamentfrie metoder for lakseluskontroll (MEDFRI) - Faglig sluttrapport. 110*. Norge: NOFIMA.

Iversen, A., Hermansen, Ø., Nystøyl, R. and Hess, E.J. (2017). *Kostnadsutvikling i lakseoppdrett – med fokus på før- og lusekostnader*. [online] Nofima. Available at: <https://nofima.no/publikasjon/1523319/> [Accessed 10 Jan. 2023].

Johnson, S.C. and Albright, L.J. (1991). Development, Growth, and Survival of *Lepeophtheirus Salmonis* (Copepoda: Caligidae) Under Laboratory Conditions. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 71(2), pp.425–436. doi:<https://doi.org/10.1017/s0025315400051687>.

Kvamstø, N.G. (2023). *Samarbeid løser problemet med lakselus*. [online] Havforskningsinstituttet. Available at: <https://www.hi.no/hi/nyheter/2023/august/samarbeid-loser-problemet-med-lakselus> [Accessed 12 Feb. 2024].

Luseforskriften (2009). *Forskrift om bekjempelse av lus i akvakulturanlegg*. [online] Available at: <https://lovdata.no/dokument/LTI/forskrift/2009-08-18-1095> [Accessed 5 Apr. 2024].

McLean, P.H., Smith, G.W. and Wilson, M.J. (1990). Residence time of the sea louse, *Lepeophtheirus salmonis* K., on Atlantic salmon, *Salmo salar* L., after immersion in fresh water. *Journal of Fish Biology*, 37(2), pp.311–314. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1990.tb05861.x>.

Miljeteig C, Vatn JAÅ, Solstad MA, Bjørnstad LF, Børset E, Tyssedal JS, Sture Ø, Ludvigsen M, Evensen Ø, Altin D, Olsen Y, Båtnes AS (in prep.) Light responses of salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) copepodites to selected wavebands, pulsation frequencies and intensities of artificial light.

Mo, T.A. (2024). Parasitter. In: R.E. Olsen and B. Finstad, eds., *Fiskefysiologi*. [online] Norge: NTNU . Available at: https://ntnuopen.ntnu.no/ntnu-xmlui/bitstream/handle/11250/3113208/Fiskefysiologi_Kapittel_15_3001.pdf?sequence=19&isAllowed=y [Accessed 5 Mar. 2024].

Nærings og Fiskeridepartementet (2024). *Ny fargelegging i trafikklyssystemet for havbruk*. [online] Regjeringen.no. Available at: <https://www.regjeringen.no/no/aktuelt/ny-fargelegging-i-trafikklyssystemet-for-havbruk/id3028522/>.

Natoli, C. and Oimoen, S. (2009). *Classical Designs: Full Factorial Designs*. [online] *afit.edu*, USA: Air Force Institute of Technology, pp.1–25. Available at: https://www.afit.edu/stat/statcoe_files/Classical%20Designs-Full%20Factorial%20Designs_Final.pdf [Accessed 20 Jan. 2024].

Nersten, M. (2021). *Fate of Lepeophtheirus salmonis and Caligus elongatus During Farmed Salmon Crowding*. Masteroppgave.

NOAA (2019). *Why is the ocean blue?* [online] Noaa.gov. Available at: <https://oceanservice.noaa.gov/facts/oceanblue.html> [Accessed 27 May 2024].

Novales Flamarique, I., Browman, H.I., Belanger, M. and Boxaspen, K. (2000). Ontogenetic changes in visual sensitivity of the parasitic salmon louse *Lepeophtheirus salmonis*. *Journal of Experimental Biology*, 203(11), pp.1649–1657. doi:<https://doi.org/10.1242/jeb.203.11.1649>.

NTNU. (2024). *SLEAP – High Performance Computing*. [online] Available at: <https://www.hpc.ntnu.no/idun/documentation/sleap/> [Accessed Jan. 2024].

Oppedal, F. (2024). *Oppsamling av bevegelige lus som faller av og deres evne til spredning og reinfeksjon*. [Havforskningsinstituttet] Available at: <https://fhf-cdn-gdexgwgdcef5dga0.z01.azurefd.net/media/mtblzeb1/30-frode-oppedal-havforskningsinstituttet.pdf> [Accessed 23 Jan. 2024].

Overton, K., Barrett, L., Oppedal, F., Kristiansen, T. and Dempster, T. (2019). Sea lice removal by cleaner fish in salmon aquaculture: a review of the evidence base. *Aquaculture Environment Interactions*, 12, pp.31–44. doi:<https://doi.org/10.3354/aei00345>.

Overton, K., Dempster, T., Oppedal, F., Kristiansen, T.S., Gismervik, K. and Stien, L.H. (2018). Salmon lice treatments and salmon mortality in Norwegian aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*, 11(4), pp.1398–1417. doi:<https://doi.org/10.1111/raq.12299>.

Pereira, T.D., Tabris, N., Matsliah, A., Turner, D.M., Li, J., Ravindranath, S., Papadoyannis, E.S., Normand, E., Deutsch, D.S., Wang, Z.Y., McKenzie-Smith, G.C., Mitelut, C.C., Castro, M.D., D’Uva, J., Kislin, M., Sanes, D.H., Kocher, S.D., Wang, S.S.-H. ., Falkner, A.L. and Shaevitz, J.W. (2022). SLEAP: A deep learning system for multi-animal pose tracking. *Nature Methods*, 19(4), pp.486–495. doi:<https://doi.org/10.1038/s41592-022-01426-1>.

Pike, A.W. and Wadsworth, S.L. (1999). Sealice on Salmonids: Their Biology and Control. *Advances in Parasitology*, 44, pp.233–337. doi:[https://doi.org/10.1016/s0065-308x\(08\)60233-x](https://doi.org/10.1016/s0065-308x(08)60233-x).

Pollack, R.J., Engelman, D., Steer, A.C. and Norton, S.A. (2017). Ectoparasites. *International Encyclopedia of Public Health*, pp.417–428. doi:<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803678-5.00123-5>.

Poppe, T.T. and Bergh, Ø. (1999). *Fiskehelse og fiske sykdommer*.

Sæther, J.S. (2024). *IDUN tutorial from the perspective of a master's student (2024 edition) – High Performance Computing*. [online] NTNU. Available at: <https://www.hpc.ntnu.no/idun/documentation/idun-tutorial-from-the-perspective-of-a-masters-student-2024-edition/> [Accessed 10 Feb. 2024].

Sea Lice Research Centre (2020). *SLRC - Life cycle of the salmon louse (Lepeoptheirus salmons)*. [online] Available at: <https://doi.org/10.18710/GQTYYL> [Accessed 15 Apr. 2024].

Sievers, M., Oppedal, F., Ditria, E. and Wright, D.W. (2019). The effectiveness of hyposaline treatments against host-attached salmon lice. *Scientific Reports*, [online] 9(1). doi:<https://doi.org/10.1038/s41598-019-43533-8>.

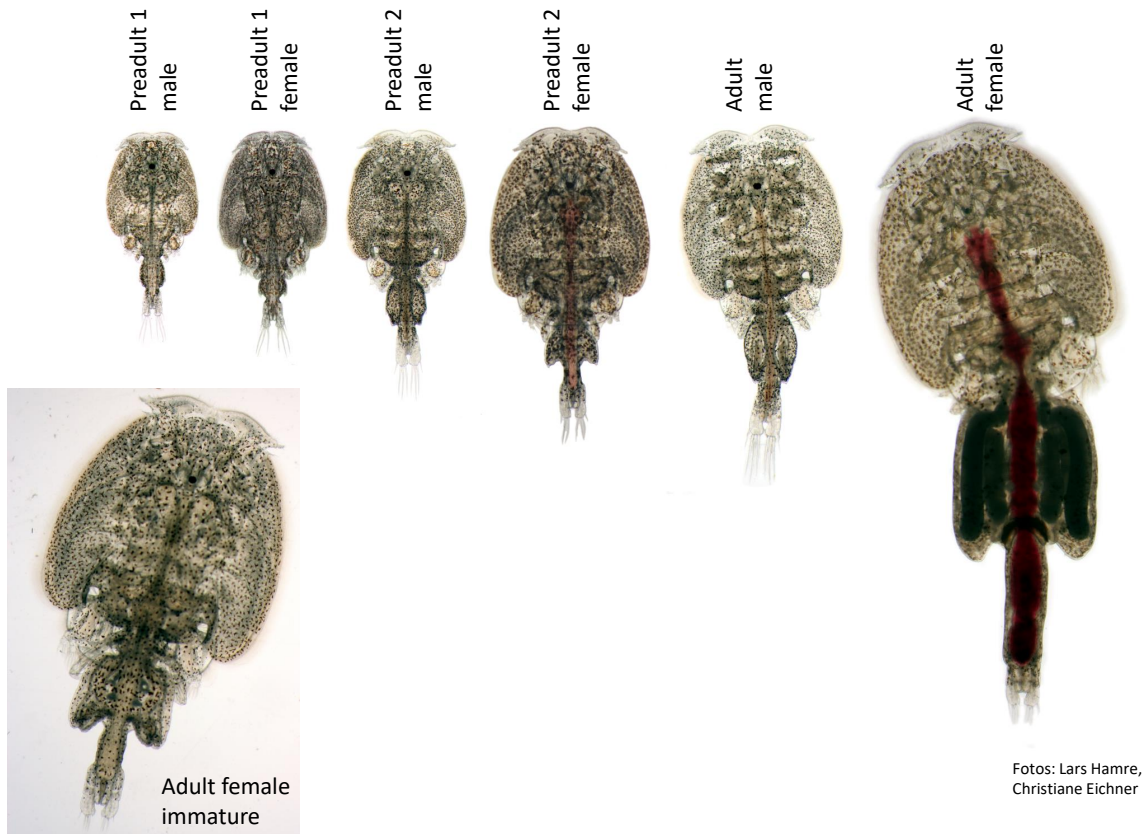
sleap.ai. (2019-2023). *Tutorial — SLEAP (v1.3.3)*. [online] Available at: <https://sleap.ai/tutorials/tutorial.html> [Accessed 10 May 2024].

Torrissen, O., Jones, S., Asche, F., Guttormsen, A., Skilbrei, O.T., Nilsen, F., Horsberg, T.E. and Jackson, D. (2013). Salmon lice - impact on wild salmonids and salmon aquaculture. *Journal of Fish Diseases*, 36(3), pp.171–194. doi:<https://doi.org/10.1111/jfd.12061>.

Wright, D.W., Oppedal, F. and Dempster, T. (2016). Early-stage sea lice recruits on Atlantic salmon are freshwater sensitive. *Journal of Fish Diseases*, 39(10), pp.1179–1186. doi:<https://doi.org/10.1111/jfd.12452>.

Vedlegg A

Referansebilde



Figur A.1: Referansebilde brukt til å bestemme stadie på lakselus brukt i lysforsøket, tilsendt på e-post fra Christiane Eichner.

Vedlegg B

Lyskoden brukt til forsøkene

```
#include <Adafruit_GFX.h>
#include <Adafruit_NeoMatrix.h>
#include <Adafruit_NeoPixel.h>
#ifndef PSTR
  #define PSTR
#endif

//Set PIN used (PIN 5 is already connected in the control box, if you need
to change it for any reason change this value)
#define PIN 5

//This defines the parameters of the LED array (named 'matrix'), not
important for use but please do not change anything here
Adafruit_NeoMatrix matrix = Adafruit_NeoMatrix(8, 8, PIN,
  NEO_MATRIX_TOP      + NEO_MATRIX_LEFT +
  NEO_MATRIX_ROWS + NEO_MATRIX_PROGRESSIVE,
  NEO_GRBW            + NEO_KHZ800);

// Define an array of colors for quick use: colors[0]=White,
colors[1]=Red, colors[2]=Green, colors[3]=Blue, colors[4]=custom RGB
colour
// Change RGB values below to edit the array
const uint16_t colors[] = {
  matrix.Color(255, 255, 255), //0 - White
  matrix.Color(255, 0, 0), //1 - Red
  matrix.Color(0,255,0), //2 - Green
  matrix.Color(0,0,255), //3 - Blue
  matrix.Color(0,0,0), //4 - Custom
  matrix.Color(127,255,210) //5 - Moonlight
};

//All arduino code consists of a setup and a loop, the setup is used to set
some parameters, in this case to start the LED array and to
//set the brightness

void setup() {
  matrix.begin(); //initialise the LED board
}

//4 ulike alternativer for å lage de ulike stimuliene brukt i forsøkene

//Her for blinkende lys på 0,5 sekunder på og 3 sekunder av, blå farge og
høy intensitet.

void loop(){
```

```
for(int(x)=0;x<1000;x++){
  matrix.fillScreen(colors[3]); matrix.setBrightness(100);
  matrix.show();delay(500);
  matrix.fillScreen(colors[4]);
  matrix.show();delay(3000);
  matrix.fillScreen(colors[3]);matrix.setBrightness(100);
  matrix.show();delay(500);
  matrix.fillScreen(colors[4]);
  matrix.show();delay(3000);}
```

//Her med blinkende lys 0,5 sekunder på og 3 sekunder av, med rød farge og lav intensitet.

```
void loop(){
```

```
for(int(x)=0;x<26;x++){
  matrix.drawLine(1,3,6,3,colors[1]); matrix.setBrightness(10);
  matrix.show();delay(500);
  matrix.fillScreen(colors[4]);
  matrix.show();delay(3000);
  matrix.drawLine(1,3,6,3,colors[1]); matrix.setBrightness(10);
  matrix.show();delay(500);
  matrix.fillScreen(colors[4]);
  matrix.show();delay(3000);}
```

//Her for konstant lys med grønn farge og høy intensitet. Her med mørk avslutning

```
void loop(){
```

```
matrix.fillScreen(colors[2]); matrix.setBrightness(100);
matrix.show();delay(180000);
matrix.fillScreen(colors[4]); matrix.setBrightness(10);
matrix.show();delay(400000);
```

//Her for konstant lys med blå farge og lav intensitet. Her med mørk avslutning

```
void loop(){
```

```
matrix.fillScreen(colors[3]); matrix.setBrightness(100);
matrix.show();delay(180000);
matrix.fillScreen(colors[4]); matrix.setBrightness(10);
matrix.show();delay(400000);
```

Vedlegg C

Python-koder

Koden brukt til å visualisere data:

```
import h5py
import numpy as np
import seaborn as sns
import matplotlib as mpl
import matplotlib.pyplot as plt
from scipy.interpolate import interp1d

filename = "626.h5"
with h5py.File(filename, "r") as f:
    dset_names = list(f.keys())
    locations = f["tracks"][:].T
    node_names = [n.decode() for n in f["node_names"][:]]

def fill_missing(Y, kind="linear"):
    """Fills missing values independently along each dimension after the
    first."""

    # Store initial shape.
    initial_shape = Y.shape

    # Flatten after first dim.
    Y = Y.reshape((initial_shape[0], -1))

    # Interpolate along each slice.
    for i in range(Y.shape[-1]):
        y = Y[:, i]

        # Build interpolant.
        x = np.flatnonzero(~np.isnan(y))
        f = interp1d(x, y[x], kind=kind, fill_value=np.nan,
bounds_error=False)

        # Fill missing
        xq = np.flatnonzero(np.isnan(y))
        y[xq] = f(xq)

        # Fill leading or trailing NaNs with the nearest non-NaN values
        mask = np.isnan(y)
        y[mask] = np.interp(np.flatnonzero(mask), np.flatnonzero(~mask),
y[~mask])

        # Save slice
        Y[:, i] = y

    # Restore to initial shape.
    Y = Y.reshape(initial_shape)
```

```

    return Y

locations = fill_missing(locations)

HEAD_INDEX = 0
TAIL_INDEX = 1

head_loc = locations[:, HEAD_INDEX, :, :]
tail_loc = locations[:, TAIL_INDEX, :, :]

sns.set('notebook', 'ticks', font_scale=1.2)
mpl.rcParams['figure.figsize'] = [15,6]

plt.figure()
plt.plot(head_loc[:,0,0], 'y', label='lice-0')
plt.plot(head_loc[:,0,1], 'g', label='lice-1')
plt.plot(head_loc[:,0,2], 'b', label='lice-2')

plt.plot(-1*head_loc[:,1,0], 'y')
plt.plot(-1*head_loc[:,1,1], 'g')
plt.plot(-1*head_loc[:,1,2], 'b')

plt.legend(loc="center right")
plt.title('Head locations')

plt.figure(figsize=(7,14))
plt.plot(head_loc[:,0,0],head_loc[:,1,0], 'y', label='lice-0')
plt.plot(head_loc[:,0,1],head_loc[:,1,1], 'g', label='lice-1')
plt.plot(head_loc[:,0,2],head_loc[:,1,2], 'b', label='lice-2')
plt.legend()

plt.xlim(0,3024)
plt.xticks([])

plt.ylim(500,1024)
plt.yticks([])
plt.title('Head tracks')

plt.show()

```

Kode brukt for å hente ut data i CSV-fil:

```

import h5py
import numpy as np
from scipy.interpolate import interp1d
from scipy.signal import savgol_filter
import os

filename = "689.h5"

with h5py.File(filename, "r") as f:
    dset_names = list(f.keys())
    locations = f["tracks"][:, :].T
    node_names = [n.decode() for n in f["node_names"][:]]

def fill_missing(Y, kind="linear"):
    initial_shape = Y.shape

```

```

Y = Y.reshape((initial_shape[0], -1))

for i in range(Y.shape[-1]):
    y = Y[:, i]
    x = np.flatnonzero(~np.isnan(y))
    f = interp1d(x, y[x], kind=kind, fill_value=np.nan,
bounds_error=False)
    xq = np.flatnonzero(np.isnan(y))
    y[xq] = f(xq)
    mask = np.isnan(y)
    y[mask] = np.interp(np.flatnonzero(mask), np.flatnonzero(~mask),
y[~mask])
    Y[:, i] = y

Y = Y.reshape(initial_shape)
return Y

locations = fill_missing(locations)

HEAD_INDEX = 0
TAIL_INDEX = 1

head_loc = locations[:, HEAD_INDEX, :, :]
tail_loc = locations[:, TAIL_INDEX, :, :]

def smooth_diff(node_loc, win=15, poly=3):
    node_loc_vel = np.zeros_like(node_loc)
    for c in range(node_loc.shape[-1]):
        node_loc_vel[:, c] = savgol_filter(node_loc[:, c], win, poly,
deriv=1)

    node_vel = np.linalg.norm(node_loc_vel, axis=1)
    return node_vel

# Calculate velocity for each lice
thx_vel_lice0 = smooth_diff(head_loc[:, :, 0])
thx_vel_lice1 = smooth_diff(head_loc[:, :, 1])
thx_vel_lice2 = smooth_diff(head_loc[:, :, 2])

# Combine data for each lice and add an "individual" column
csv_data_combined = np.vstack((
    np.column_stack((head_loc[:, 0, 0], -1 * head_loc[:, 1, 0],
thx_vel_lice0)),
    np.column_stack((head_loc[:, 0, 1], -1 * head_loc[:, 1, 1],
thx_vel_lice1)),
    np.column_stack((head_loc[:, 0, 2], -1 * head_loc[:, 1, 2],
thx_vel_lice2))
))

# Add an "individual" column to indicate the different lice
individual_column = np.repeat(["lice0", "lice1", "lice2"],
len(thx_vel_lice0))
csv_data_combined_with_individual = np.column_stack((individual_column,
csv_data_combined))

# Create the output filename without the ".h5" extension
output_filename, _ = os.path.splitext(filename)
output_filename += "_output_data.csv"

# Save to the combined CSV file with an "individual" column

```

```
csv_header = "individual,x_position,y_position,velocity"  
np.savetxt(output_filename, csv_data_combined_with_individual,  
delimiter=",", header=csv_header, comments="", fmt="%.18s")
```

Vedlegg D

Koder brukt til å lage linjediagram for å finne grenseverdier:

```
##Initial plot
plot(Data$Frame[Data$individual=="lice0"],xlim=c(0,15000),Data$Velocity
[Data$individual=="lice0"], type="l", col="red")
vel<-Data$Velocity
max(vel)
lapply(Data,class)

#Plot background
rect(0,0,6084,40,col=rgb(0,0,0,.133),border=NA)
rect(11484,0,15000,40,col=rgb(0,0,0,.133),border=NA)
rect(6084,0,11484,40,col=rgb(0,0,1,.2),border=NA)

## Multiple plot: Run one of the plot lines below, add background by
running the rect, run corresponding "lines"

par(mfrow=c(3,1)) ## Angir antall rader og kolonner slik:
c(rader,kolonner)

plot(Data$Frame[Data$individual=="lice0"],Data$velocity[Data$individual
=="lice0"], type="l",col="red")
lines(Data$Frame[Data$individual=="lice0"],Data$velocity[Data$individua
l=="lice0"], col="red")

plot(Data$Frame[Data$individual=="lice1"],Data$velocity[Data$individual
=="lice1"], type="l",col="blue")
lines(Data$Frame[Data$individual=="lice1"],Data$velocity[Data$individua
l=="lice1"], col="blue")

plot(Data$Frame[Data$individual=="lice2"],Data$Velocity[Data$individual
=="lice2"], type="l",col="green")
lines(Data$Frame[Data$individual=="lice2"],Data$Velocity[Data$individua
l=="lice2"], col="green")

plot(Data$Frame[Data$individual=="lice3"],Data$velocity[Data$individual
=="lice3"], type="l",col="black")
lines(Data$Frame[Data$individual=="lice3"],Data$velocity[Data$individua
l=="lice3"], col="black")

plot(Data$Frame[Data$individual=="lice4"],Data$velocity[Data$individual
=="lice4"], type="l",col="orange")
lines(Data$Frame[Data$individual=="lice4"],Data$velocity[Data$individua
l=="lice4"], col="orange")

plot(Data$Frame[Data$individual=="lice5"],Data$velocity[Data$individual
=="lice5"], type="l",col="magenta")
```



```
lines(Data$Frame[Data$individual=="lice5"],Data$velocity[Data$individual=="lice5"], col="magenta")
```

```
#export graphs
```