

Karoline Eilertsen

# Toleranse og adferdsresponsen hos skotteluslarver (*Caligus elongatus*) ved eksponering for ulike saliniteter

Masteroppgave i MLREAL

Veileder: Cecilie Miljeteig

Medveileder: Anna S. Båtnes, Maja Hatlebakk

Juni 2024



Karoline Eilertsen

# **Toleranse og adferdsresponsen hos skotteluslarver (*Caligus elongatus*) ved eksponering for ulike saliniteter**

Masteroppgave i MLREAL

Veileder: Cecilie Miljeteig

Medveileder: Anna S. Båtnes, Maja Hatlebakk

Juni 2024

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet

Fakultet for naturvitenskap

Institutt for biologi



Kunnskap for en bedre verden



# Sammendrag

*Caligus elongatus*, også kjent som skottelus, har blitt rapportert som et økende velferdsproblem i norsk oppdrett de siste årene. Mange oppdrettslokaliteter er lokalisert der saliniteten i det øvre vannlaget varierer, og dette kan påvirke distribusjonen av luselarver. Nauplius (I & II) og copepoditt utgjør larvestadiene til *C. elongatus* som er fritt svømmende i de øvre vannmassene grunnet positiv fototaksi. I denne studien ble salinitetstoleransen til copepoditter av *C. elongatus* undersøkt ved bioassay. I tillegg ble adferdsresponsen i salinitetsgradienter i en mørkeperiode og en påfølgende lysperiode undersøkt for både nauplius II og copepoditt. Det ble gjort ved å etablere en haloklin der saliniteten i det øvre vannlaget varierte (30–16 ppt), og det nedre vannlaget alltid var 32 ppt. Det ble også gjennomført en kontroll med en isohalin vannsøyle på 32 ppt. Over akvariet ble det plassert lysstimulus. Larvene ble tilsatt i bunnen av akvariet, og adferdsresponsen ble filmet. Det ble utviklet kodeverktøy i Python for å drive bevegelsesdeteksjon av luselarvene. Resultatet fra bioassay viste at copepodittene hadde svært høy toleranse til saliniteter over 17 ppt, men at andelen mobile copepoditter ble drastisk redusert ved 14 ppt og lavere. Adferdsforsøk i haloklin viste at saliniteten i brakkvannslaget hadde en signifikant effekt på copepodittenes vertikalposisjon, som unngikk brakkvann med salinitet 28 ppt og lavere ved å aggregeres i haloklinen. Naupliene unngikk saliniteter under 30 ppt, og viste større følsomhet mot lav salinitet sammenlignet med copepodittene. Copepodittene viste i tillegg en tydeligere lysrespons, og hadde generelt høyere gjennomsnittshastighet (24,1 mm/sek i kontroll) enn naupliene (14,2 mm/sek i kontroll), noe som stemmer overens med tidligere funn for arten *Lepeophtheirus salmonis*. Funnene fra denne studien tyder på at adferden til larvene blir påvirket av både saliniteten i brakkvannslag og lysstimulus, og at både salinitet og lys utgjør viktige miljøvariabler for fordelingen og distribusjonen til larvestadier av *C. elongatus*.

# Abstract

*Caligus elongatus*, in Norway also known as “the Scottish louse”, has been reported as an increasing welfare problem in Norwegian aquaculture in recent years. Many farming locations are situated where the salinity in the upper water layer varies, and this can affect the distribution of louse larvae. Nauplius (I & II) and copepodite constitute the larval stages of *C. elongatus* that are free-swimming in the upper water masses due to positive phototaxis. In this study, the salinity tolerance of copepodites of *C. elongatus* was investigated by bioassay. In addition, the behavioral response in salinity gradients during a dark period and a subsequent light period was investigated for both nauplius II and copepodite. This was done by establishing a halocline where the salinity in the upper water layer varied (30–16 ppt), and the lower water layer always was 32 ppt. A control with an isohaline water column at 32 ppt was also conducted. Light stimulus was placed above the aquarium. The larvae were added at the bottom of the aquarium, and the behavioral response was filmed. Code tools were developed in Python to drive the motion detection of the louse larvae. The result from the bioassay showed that the copepodites had very high tolerance to salinities above 17 ppt, but the proportion of mobile copepodites was drastically reduced at 14 ppt and lower. Behavioral experiments in the halocline showed that the salinity in the brackish water layer had a significant effect on the vertical position of the copepodites, which avoided brackish water with salinity 28 ppt and lower by aggregating in the halocline. Nauplius larvae avoided salinities below 30 ppt and showed greater sensitivity to low salinity compared to the copepodites. The copepodites also showed a clearer light response and generally had higher average speed (24.1 mm/sec in control) than the nauplius larvae (14.2 mm/sec in control), which is consistent with previous findings for the species *Lepeophtheirus salmonis*. The findings from this study suggest that the behavior of the larvae is influenced by both the salinity in the brackish water layer and light stimulus, and that both salinity and light constitute important environmental variables for the distribution and dispersion of larval stages of *C. elongatus*.

# Forord

Denne oppgaven ble skrevet våren 2024, som en avslutning på lektorutdanning i realfag med biologi som hovedfag. Den er en del av et samarbeid med FoU-prosjektet Taskforce lakselus ved NTNU. Oppgaven er av omfang 30 studiepoeng.

Jeg vil først og fremst takke hovedveileder Cecilie Miljeteig, og medveiledere Anna S. Båtnes og Maja Hatlebakk for uvurderlig hjelp, ekspertise, veiledning og tilbakemeldinger i arbeidet med denne oppgaven. I tillegg ønsker jeg å rette en stor takk til min medstudent Martin B. Nilsen for hjelp til utvikling av kodeverktøy til dataanalyse, og for å ha vært en stor støtte gjennom hele prosjektet. Mine medstudenter på lektorstudiet, samt min gode samboer har også bidratt med god motivasjon gjennom hele perioden. Oppgaven har vært en flott avslutning på lektorstudiet, der jeg har fått fordypet meg i marinbiologi på en utfordrende og spennende måte.

## Profesjonsrelevans og bærekraftig utvikling

For profesjonsutdanningen i lektor i realfag er oppgaven relevant på flere måter. Først og fremst adresserer den konkrete utfordringer knyttet til havbruksnæringen, som er en viktig del av norsk økonomi og næringsliv. Oppgaven er også knyttet til FNs bærekraftsmål gjennom flere punkter. Disse har blitt en viktig del av undervisningen i skolen gjennom å tilby et rammeverk for å utforske samfunnsmessige, økonomiske og miljømessige utfordringer på en tverrfaglig måte (Kunnskapsdepartementet, 2022). Oppgaven har også innebært å utvikle kunnskap om hvordan man planlegger, gjennomfører og vurderer et vitenskapelig forsøk, som i tillegg skal knyttes opp mot relevant teori og praksis. Dette er nyttig kunnskap når man som profesjonsutøver skal utøve god undervisning, spesielt siden planlegging og gjennomføring av forsøk inngår som en del av læreplanen i både Biologi 1 og 2 (Utdanningsdirektoratet, 2020).

Oppdrettsnæringen spiller en viktig rolle i å møte den økende etterspørselen etter sjømat, og bidrar dermed til økt matsikkerhet globalt. Dette er sterkt knyttet opp mot FNs bærekraftsmål 2 om å *utrydde sult* (FN, 2023a). Økt kunnskap om utfordringer oppdrettsnæringen står ovenfor, i dette tilfellet parasitten *C. elongatus*, vil på sikt kunne bidra til økt fiskevelferd, økt trygghet for næringen og potensielt økt produksjon av matfisk på sikt. Bærekraftig havbruk er igjen knyttet opp mot FNs bærekraftsmål 14, som handler om *livet i havet* (FN, 2023b). Parasittproblemet i norsk oppdrettsnæring påvirker både veksten i næringen direkte, i tillegg til ville bestander av fisk. Å redusere luseproblemet er et bidrag til å opprettholde bærekraftige marine økosystemer, ettersom næringen har stor innvirkning på både miljø og økonomi.

# Innhold

Sammendrag .....	i
Abstract .....	ii
Forord .....	iii
Profesjonsrelevans og bærekraftig utvikling .....	iii
Figurer .....	v
Tabeller .....	vi
1 Introduksjon .....	1
1.1 Bakgrunn for oppgaven .....	1
1.2 <i>Caligus elongatus</i> .....	1
1.2.1 Livssyklus og utvikling .....	1
1.2.2 Livssyklus og temperatur .....	3
1.2.3 <i>Caligus elongatus</i> og miljøstimuli: salinitet, temperatur og lys ....	3
1.3 Mål .....	5
2 Materialer og metode .....	6
2.1 Håndtering og klekking av eggstrenger .....	6
2.2 Salinitetstoleranse ved bioassay .....	6
2.3 Adferdsmønster i vertikale salinitetsgradienter .....	7
2.3.1 Etablering av haloklin og opptak av luselarvenes adferd .....	7
2.3.2 Bildebehandling og videoanalyse .....	9
2.4 Databehandling og statistisk analyse .....	11
3 Resultat .....	13
3.1 Salinitetstoleranse ved bioassay .....	13
3.2 Adferdsmønstre i vertikale salinitetsgradienter .....	14
3.2.1 Adferdsmønstre hos copepoditter .....	15
3.2.2 Adferdsmønstre hos nauplii .....	19
4 Diskusjon .....	24
4.1 Salinitetstoleranse hos copepoditter .....	24
4.2 Adferdsmønster i vertikale salinitetsgradienter .....	25
4.2.1 Copepoditters adferdsrespons .....	25
4.2.2 Naupliuslarvers adferdsrespons .....	27
4.2.3 Videre forskning .....	28
5 Konklusjon .....	30
Referanseliste .....	31
Vedlegg .....	35



# Figurer

- Figur 1: Nauplius II-stadiet (A) og copepodittstadiet (B) til *C. elongatus* sett ovenfra. Målestav 0,1 mm. Bilde fra Schram (2004). ..... 2
- Figur 2: Skjematisk fremstilling av oppsettet som ble brukt til å undersøke adferdsmønstre i vertikale salinitetsgradienter sett ovenfra (A) og fra siden (B), samt et bilde av akvariet med en etablert haloklin med fargestoff for å visuelt detektere salinitetsgradienten (C). Det eksperimentelle oppsettet bestod av et akvarium (1), to infrarøde lyskastere (2), lysstimulus (3) over akvariet festet til en åpen ramme (4), og et kamera (5). ..... 8
- Figur 3: Eksempel på plott basert på x- og y-koordinater for bevegelsesdeteksjon i akvariet (salinitet 18 ppt, replikat 3, copepoditt). Datasett A viser de 15 mest synlige bevegelsene med tilhørende objekt-ID. Datasett B viser det samme datasettet etter ekskludering av spor basert på ekskluderingskriterier..... 10
- Figur 4: Eksempel på individuelle spor fra tre replikater representert i samme plot (copepoditt, 18 ppt). Posisjonen til alle synlige lus ble samlet før videre databehandling, og er visualisert i forhold til akvariets høyde og bredde. Det grå området markerer der salinitetsendringen var størst, altså mellom 900-1000 mm høyde (haloklinen). ..... 11
- Figur 5: Gjennomsnittlig andel mobile copepoditter (%) av *C. elongatus* etter 24 t eksponering for ulike saliniteter (32–2 ppt), med tilhørende standardavvik (SD). ..... 13
- Figur 6: Gjennomsnittlig posisjon i vertikalretning (mm) til copepoditter i mørkeperioden og lysperioden for ulike saliniteter i brakkvannslaget, samt isohalin kontroll (32 ppt). Grått område markerer der salinitetsendringen er størst (haloklinen). Standardavvik (SD) beregnet for alle sporede individer. .... 16
- Figur 7: Løpende gjennomsnittsposisjon i vertikalretning for copepoditter over tid ved alle saliniteter (32–16 ppt). Grå spor viser bevegelsesmønstre i vertikalretning for alle synlige lus i mørkeperioden (20,8 sek.) og lysperioden (81,6 sek.) over en periode på totalt 102 sek. Den vertikale grå linjen representerer endring i lysstimulus. Grått område markerer haloklinens plassering (900-1000 mm). Under haloklinen var saliniteten 32 ppt for alle eksponeringer, mens saliniteten i brakkvannet over haloklinen varierte. Løpende gjennomsnitt med standardavvik ble beregnet per sekund (120 bilder), og alle individuelle bevegelsesspor er vist som et løpende gjennomsnitt av 20 bilder. .... 18
- Figur 8: Gjennomsnittlig vertikalposisjon (mm) til naupliuslarver i mørkeperioden og lysperioden for ulike saliniteter i brakkvannslaget, samt isohalin kontroll (32ppt). Grått område markerer der salinitetsendringen er størst (haloklinen). Standardavvik (SD) beregnet for alle sporede individer..... 20
- Figur 9: Løpende gjennomsnittsposisjon i vertikalretning for nauplier over tid ved alle saliniteter (32–16 ppt). Grå spor viser bevegelsesmønstre i vertikalretning for alle synlige lus i mørkeperioden (20,8 sek.) og lysperioden (81,6 sek.) over en periode på totalt 102 sek. Den vertikale grå linjen representerer endring i lysstimulus. Grått område markerer haloklinens plassering (900–1000 mm). Under haloklinen er saliniteten 32 ppt for alle eksponeringer, mens saliniteten i brakkvannet over haloklinen varierer. Løpende gjennomsnitt med standardavvik ble beregnet per sekund (114/120 bilder), og alle individuelle bevegelsesspor er vist som et løpende gjennomsnitt av 20 bilder. .... 22

# Tabeller

Tabell 1: Tiden mellom hvert utviklingsstadium for frittlevende larvestadier av <i>C. elongatus</i> for ulike temperaturer. Hvor lenge copepoditten kan overleve uten er vert er også avhengig av temperatur. Data etter Myhre (2021).....	3
Tabell 2: Mengde saltvann (32 ppt) og destillert vann (Dest. vann) som ble tilsatt ved ulike trinn i bioassay. Ulik mengde destillert vann ble tilsatt i tre trinn (1, 2, 3) ved hjelp av stoppeklokke og vekt. Dette ble gjort for 9 saliniteter, i tillegg til en kontroll (*). .....	7
Tabell 3: Antall bilder for opptak gjort i 120 og 114 bilder/sekund (FPS). Det ble hentet ut ulikt antall bilder fra mørkeperioden (20,8 sekunder) og lysperioden (81,6 sekunder) før videre databehandling. ....	10
Tabell 4: Antall detekterte spor av nauplier og copepoditter for alle saliniteter. Tre replikater (halokliner) ble gjennomført for hver salinitet, og det totale antallet synlige lus ble ulikt for hver eksponering da replikatene ble slått sammen.....	14
Tabell 5: Hastighet i mm/sek for alle copepoditter i halokliner med brakkvannslag (30–16 ppt) samt en isohalin kontroll (32 ppt). Gjennomsnittshastigheten ble beregnet for tre ulike perioder: før lysstimulus (20,8 sekunder), en tilsvarende periode etter lysstimulus (20,8 sekunder), og for den totale perioden med lysstimulus (81,6 sekunder) med tilhørende standardavvik (SD). ....	19
Tabell 6: Hastighet i mm/sek for alle nauplier i halokliner med brakkvannslag (30–16 ppt) samt en isohalin kontroll (32 ppt). Gjennomsnittshastigheten ble beregnet for tre ulike perioder: før lysstimulus (20,8 sekunder), en tilsvarende periode etter lysstimulus (20,8 sekunder), og for den totale perioden med lysstimulus (81,6 sekunder) med tilhørende standardavvik (SD). ....	23

# 1 Introduksjon

## 1.1 Bakgrunn for oppgaven

Norsk havbruksnæring har siden 1970-tallet hatt stor vekst, både når det gjelder produksjon og verdiskapning. Produksjonen av Atlantisk laks (*Salmo salar*) har økt de siste tiårene, og Norge produserer nå 1,5 mill. tonn laks årlig. Eksportverdien til norsk laks er beregnet til 122,5 milliarder norske kroner, og Norge er det landet som produserer mest Atlantisk laks i verden (Norges sjømatråd, 2024). Produksjonsveksten i norsk oppdrett har de siste årene stagnert, og en av grunnene til dette er utfordringene knyttet til forekomsten av lus (NOU 2023:23, s. 21). Årlig koster lus næringen mye i form av avlusning, økt dødelighet og redusert vekst. Hovedsakelig er det lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*), som har utgjort et problem. I tillegg representerer også *Caligus elongatus*, også kalt skottelus, en utfordring for norsk oppdrett. *Caligus elongatus* har blitt rapportert som et økende velferdsproblem i norsk oppdrettsnæring de siste årene, særlig i Nord-Norge, som utgjør produksjonsområde 10-13 (Sommerset et al., 2023). Påslag av *C. elongatus* utgjør et problem for fiskevelferden fordi den irriterer og stresser fisken, og fører til økt dødelighet (Imstrand et al., 2019). Innrapportering av *C. elongatus* er ikke omfattet av luseforskriften, og per i dag er det heller ingen offentlige registre over forekomsten av *C. elongatus* i norske oppdrettsmerder. Med økende matfiskproduksjon i Nord-Norge har det blitt tydelig at *C. elongatus* potensielt kan bli et betydelig velferdsproblem for norsk oppdrett.

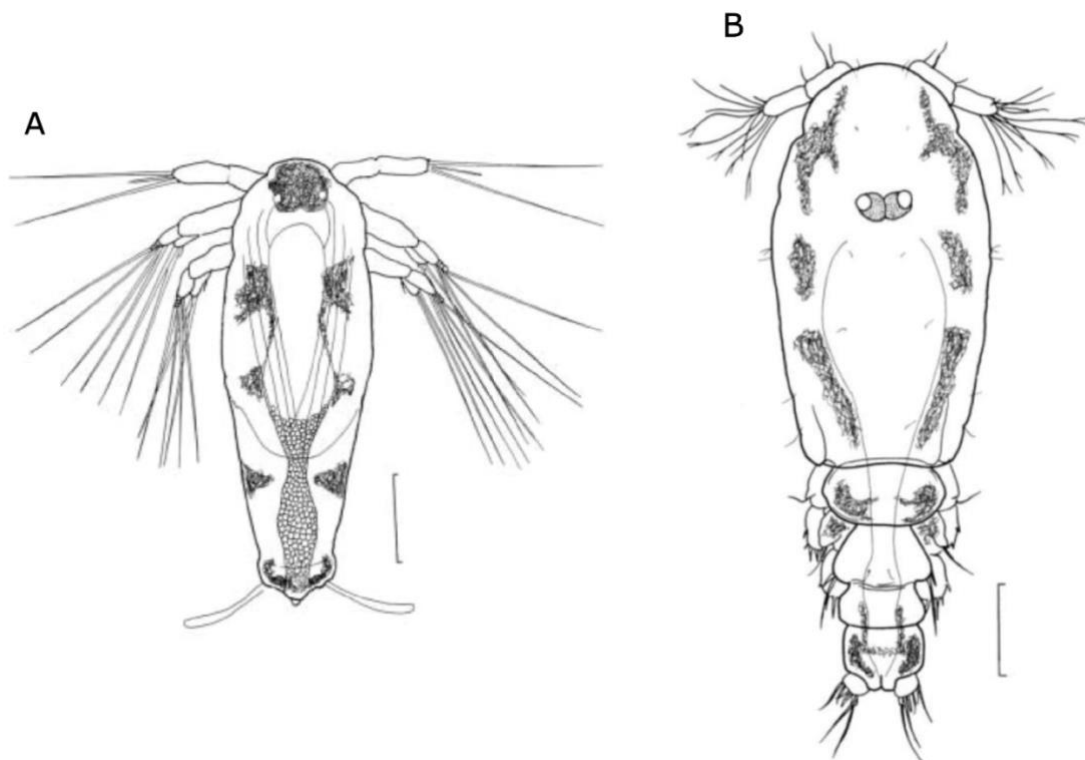
## 1.2 *Caligus elongatus*

*Caligus elongatus* er en parasittisk copepode med direkte livssyklus og åtte utviklingsstadier. Den er mindre vertsspesifikk enn *L. salmonis*, og kan infisere opptil 80 ulike fiskearter (Treasurer et al., 2022). I tillegg til oppdrettslaks (*S. salar*) er vanlige verter blant annet rognkjeks (*Cyclopterus lumpus*), lyr (*Pollachius pollachius*), ørret (*Salmo trutta*), sild (*Clupea harengus*), sei (*Pollachius virens*) og torsk (*Gadus morhua*) (Treasurer et al., 2022). *Caligus elongatus* er mer mobil enn *L. salmonis*. Den kan raskt forflytte seg på vertsfisken, eller hoppe av og svømme mellom vertsfisk (Neilson et al., 1987; Pike, 1989). Denne mobiliteten gjør at lusa kan hoppe av fisken, slik at den ikke rekker å bli registrert under lusetellinger (Sommerset et al., 2024). I motsetning til *L. salmonis*, der det ofte blir observert en utvikling fra fastsittende stadier til preadult og adult, kan *C. elongatus* ha en plutselig infeksjon med adulte individer i merdene (Sommerset et al., 2024). Det er foreslått at villfisk rundt oppdrettsanlegget kan fungere som et reservoar for adult lus som raskt kan infisere en populasjon med oppdrettslaks (Wootten, Smith & Needham, 1982).

### 1.2.1 Livssyklus og utvikling

Livssyklusen til *C. elongatus* består av åtte utviklingsstadier, med et skallskifte mellom hvert stadie. Det er to naupliusstadier (Nauplius I og II, flertall: nauplii), ett copepodittstadium, fire stadier av chalimus (I-IV), og adult lus (Piasecki, 1996). Larvene klekkes fra eggstrenger og ut i vannet, og svømmer fritt ved hjelp av tre beinpar. Larvene klekkes som nauplius I, og bruker ca. 24 timer på å utvikle seg til nauplius II

ved 10 °C (Piasecki & MacKinnon, 1995). Naupliuslarvene er ca. 500 µm lange og 200 µm brede, og har en oval form som tilsvarer formen på egget, (Figur 1A; Schram, 2004). Den ovale formen blir mer avlang over tid. Positiv fototaksi gjør at larvene oppholder seg i de øvre vannmassene. Dette øker muligheten deres til å finne en vert når de utvikler seg videre til copepoditter (Hogans & Trudeau, 1989). Larvene svømmer med hjelp av de børstekledde beinparene i en karakteristisk rykkvis bevegelse (Hemmingsen et al., 2020). Naupliuslarvene er planktoniske, mangler mage og inntar derfor heller ingen næring (Pike et al. 1993). Nauplii må overleve og utvikle seg til å bli copepoditter på sine energireserver, og det er gunstig for dem å oppholde seg i forhold som muliggjør dette (á Norði et al., 2015). Når nauplius II utvikler seg til copepoditt går lusa over i sitt infektive stadium, og copepodittene må finne en vert før energireservene deres går tomme.



**Figur 1: Nauplius II-stadiet (A) og copepodittstadiet (B) til *C. elongatus* sett ovenfra. Målestav 0,1 mm. Bilde fra Schram (2004).**

Copepodittene har en mer strømlinjeformet kropp enn naupliuslarvene, og er ca. 660 µm lang og 200 µm brei (Figur 1B; Schram, 2004). Kroppen er segmentert og svømmebena har børster, noe som gjør de til bedre svømmere enn naupliuslarvene (Piasecki, 1996). Kroppen er dorsoventral flattrøkt, og dette gjør at de evner å motstå vanntrykk når de er festet til verten (Boxshall & Özak, 2022). Svømmingen er karakterisert av en rykkvis bevegelse som kommer av at copepoditten slår med svømmebena for å bevege seg oppover i vannsøylen, for deretter å synke når den hviler. Copepodittene er positiv fototaktiske (MacKinnon, 1993), og negativ rheotaktisk, som betyr at de svømmer mot lysstimuli og mot vannstrømmen. Copepodittstadiet er det infektive stadiet, og lusa trenger dermed å feste seg til en vert for å fortsette livssyklusen (Piasecki & MacKinnon, 1995). Dersom copepoditten finner en egnet vert, vil den feste seg og utvikle seg videre til chalimus.

Det er fire stadier av chalimus (I–IV), og alle er fastsittende med et frontalfilament som er festet i fisken (Piasecki & MacKinnon, 1995). Chalimus blir til adult lus, der hunnen blir

opptil 5700 µm lang (Piasecki, 1996). Adult lus fester seg til fisken ved at de danner et undertrykk under kroppen (Boxshall & Özak, 2022). De har også svømmeben som gjør at de kan bevege seg mellom verter (Hogans & Trudeau, 1989).

### 1.2.2 Livssyklus og temperatur

Som for andre krepsdyr, er utviklingshastigheten til *C. elongatus* sterkt knyttet til temperatur, der en lavere temperatur gir lengre generasjonstid og langsommere utvikling (Pike et al., 1993; Costello, 2006). Myhre (2021) fant at temperatur påvirker både utviklingsstadiene og morfologien til *C. elongatus*. Kaldere temperaturer gjør at lusa utvikler seg saktere, overlever lengre, samt vokser seg større sammenlignet med høyere temperaturer som gir en raskere vekst, kortere overlevelsestid og mindre størrelse (Tabell 1; Myhre, 2021). Piasecki og MacKinnon (1995) studerte livssyklusen til *C. elongatus* under laboratorieforhold ved 10 °C. De fant at eggstrengene brukte 8 dager fra produksjon til klekking ved denne temperaturen. Ved samme temperatur varte nauplius I-stadiet i nesten 24 timer, og nauplius II-stadiet varte i ca. 67 timer. Ved 10°C brukte altså larvene ca. 3,8 døgn på å bli copepoditter. Myhre (2021) viste at larvene ble copepoditter etter 4,8 døgn ved 9°C, altså etter litt lengre tid sammenlignet med 10°C. Begge studiene viste også at nauplius I- og II-stadiet også varte lengre ved 9°C enn ved 10°C, hhv. 36 og 79 timer (Piasecki & MacKinnon, 1995; Myhre, 2021).

**Tabell 1: Tiden mellom hvert utviklingsstadium for frittlevende larvestadier av *C. elongatus* for ulike temperaturer. Hvor lenge copepoditten kan overleve uten er vert er også avhengig av temperatur. Data etter Myhre (2021).**

Utviklingsstadium	Antall døgn etter klekking			
	6°C	9°C	12°C	15°C
<b>Nauplius II</b>	1,9	1,5	1	0,7
<b>Copepoditt</b>	8	4,8	3,3	2,5
<b>Død</b>	21,5	17,1	17,1	9,7

### 1.2.3 *Caligus elongatus* og miljøstimuli: salinitet, temperatur og lys

Både salinitet (Heuch et al., 2002; Heuch et al., 1995a; Gravli, 1996) og temperatur (Hogans & Trudeau, 1989) utgjør viktige faktorer for distribusjonen av *L. salmonis* i vannsøylen, og det er grunn til å tro at disse faktorene også påvirker *C. elongatus*. Studier viser at larvestadier av *L. salmonis* har positiv fototaksi, og svømmer mot lysstimulus dersom intensiteten er høy nok (Gravli, 1996; Aarseth & Schram, 1999). Larvestadier av *L. salmonis* har også vist seg å respondere ulikt på miljøstimuli (Crosbie et al., 2019). Det har blitt dokumentert omvendt vertikale migreringsmønster i vannsøylen der copepoditter oppholder seg i øvre vannmasser på dagtid, men trekker dypere ned i vannsøylen om natten. For *L. salmonis* nauplii ble det kun registrert en liten forskjell i dybde mellom dag og natt (Heuch et al., 1995b), noe som kan skyldes at naupliene er mindre følsomme for lysstimulus enn copepodittene (Gravli, 1996). Larvenes miljøpreferanser gir en fordeling i vannet som øker sannsynligheten for å støte på en vert (Hogans & Trudeau, 1989). *Lepeophtheirus salmonis* øker antall lus-vertsinteraksjoner gjennom omvent diel vertikal migrasjon, som er motsatt av

migreringsmønsteret til ville salmonider. Dette gjør at lakseluscopepodittene svømmer gjennom fiskepopulasjonen to ganger i døgnet, som øker antallet lus-vert møter (Heuch et al., 1995b). Copepodittene vil derimot stoppe dersom de treffer på vann med for lav salinitet (Crosbie et al., 2019). Det er grunn til å tro at larver av *C. elongatus* har lignende adferd som larver av *L. salmonis*.

Adferden til *C. elongatus* ved eksponering for ulik salinitet har ikke blitt dokumentert i like stor grad som adferd hos *L. salmonis*. Crosbie et al. (2019) undersøkte adferden til *L. salmonis*, både nauplii og copepoditter, eksponert for halokliner med ulik salinitet. Det ble benyttet et konstant saltvannssjikt med 34,7 ppt salinitet i bunnen, og et brakkvannssjikt med varierende salinitet (34,7–16 ppt) over. De fant at naupliuslarver av *L. salmonis* vanligvis unngår saliniteter under 30 ppt. Lakseluscopepoditter viser høyere toleranse for lavere salinitet sammenlignet med nauplier, men velger å unngå brakkvannslaget dersom saliniteten blir for lav (<22 ppt) (Crosbie et al., 2019). I likhet med *L. salmonis*, har *C. elongatus* vist seg å være lite tolerant for lav salinitet (Landsberg et al., 1991), og det er vist at abundansen av *C. elongatus* er tett knyttet til salinitet (Heuch et al., 2002). Schram et al. (1998) foreslo at *C. elongatus* har lavere toleranse for lav salinitet enn *L. salmonis*, ettersom de sjeldent var å finne i fjorder med lav salinitet. Adulte individer av *C. elongatus* kan potensielt hoppe av verten i møte med brakkvann eller ferskvann, med gode muligheter for å finne en ny, egnet vert, ettersom de er relativt gode svømmere (Piasecki, 1996) og har mange potensielle verter (Kabata, 1979; Treasurer et al., 2022).

Det er utført flere studier om *L. salmonis* sin toleranse til ferskvann og lave saliniteter enn det er gjort for *C. elongatus*. Hanenkamp & Fyhn (1985) undersøkte den osmotiske responsen hos adult *L. salmonis* utsatt for ferskvann, både med og uten vert. *Lepeophtheirus salmonis* festet til en vert kunne overleve i ferskvann i opptil én uke. *Lepeophtheirus salmonis* uten vert derimot, fikk fortynnet kroppsvæske og høy grad av dødelighet etter bare 8 timer. Grunnen til at *L. salmonis* dør når de blir utsatt for ferskvann, kommer av deres manglende evne til å osmoregulere når saliniteten blir for lav (Hankenamp & Fyhn, 1985). Trolig er dette gjeldende for *C. elongatus* også, men det er ingen studier som tilstrekkelig har dokumentert lusa evne til å osmoregulere ved lavere saliniteter. Adult *L. salmonis* viser hyperosmotisk regulering ved lav salinitet, og toleransen for ferskvann varierer avhengig av om lusa er frittsvømmende eller fastsittende. Dette indikerer at fastsittende *L. salmonis* benytter seg av blod og slim fra fisken til å opprettholde en stabil hemolymfe-osmolalitet. Frittsvømmende *L. salmonis* får fortynnet hemolymfe, og evner ikke å kompensere for salttapet ved eksponering for ferskvann (Fields, 2022). Ettersom både nauplii og copepoditter er frittsvømmende stadier, har de ingen mulighet til å hente ioner fra fisken for å opprettholde indre osmolalitet. Dette gjelder trolig for *C. elongatus* også.

Under naturlige forhold er det vanlig at saltholdigheten i de øvre vannmassene der lusa oppholder seg varierer. Halokliner er horisontale lag der det forekommer en markant endring i saltholdighet over en kort avstand. Disse lagene dannes som et resultat av forskjeller i tettheten til vann med ulik saltholdighet. Vann med høyere salinitet har høyere tetthet, og vil plassere seg under vann med lavere salinitet. Selve haloklinen er dermed en grenseflate mellom vannlag med ulik saltholdighet. Dersom det ikke forekommer endringer i salinitet i vannsøylen er den derimot *isohalin*. Halokliner er vanlig å finne i fjorder, der ferskvannsavrenning fra land møter et marint miljø. Fjorder har begrenset utveksling av vann, og ferskvannstilførselen i en fjord varierer med årstiden. Om sommeren danner det seg vanligvis et lite lag øverst med lavere salinitet.

Dette laget er ofte størst innerst i fjorden, og saltholdigheten øker utover i fjorden grunnet estuarin sirkulasjon (Sælen, 1950). Flere av Norges rundt 1000 oppdrettslokaliteter er plassert i og i nærheten av fjordsystemer. Det er vist at salinitetsgradienter påvirker fordelingen av lakseluslarver, og at copepoditter av lakselus akkumuleres i halokliner når saliniteten blir for lav (16–20ppt) (Crosbie et al. 2019). Heuch et al. (1995a, 2002) fant at lakseluslarver akkumuleres i halokliner for å unngå vann med lavere salinitet og lavere tetthet på toppen av sjøvann med høy salinitet og høyere tetthet. Det er også vist at saliniteter under 29 ppt drastisk reduserer overlevelse av lakseluslarver (Bricknell et al., 2006).

Å forstå hvordan salinitet påvirker luselarver, både for *L. salmonis* og *C. elongatus*, er derfor viktig for å kunne øke kunnskapsnivået om spredning og fordeling av larver i fjordsystemer. På bakgrunn av dette kan det utarbeides modelleringer som forteller hvor det kan forventes å finne lus. Økt kunnskap om *C. elongatus* vil kunne bidra til å gi bedre kunnskap om smitemekanismer, samt bidra til å forstå hvordan arten oppfører seg i vannmassene.

### 1.3 Mål

Hovedmålet med oppgaven er å undersøke toleranse for lave saliniteter (30–2 ppt), samt adferd i møte med brakkvannslag med varierende salinitet (30–16 ppt) for naupliuslarver og copepoditter av *C. elongatus*. Adferd i halokliner skal undersøkes i en mørkeperiode og en påfølgende lysperiode.

Forskningsspørsmål:

1. Hvor stor andel copepoditter av *C. elongatus* forblir mobile ved eksponering for lav salinitet (30–2 ppt) i 24 timer?
2. Hvordan påvirker saliniteten i brakkvannslag (30–16 ppt) adferdsresponsen og den vertikale posisjonen til nauplii og copepoditter av *C. elongatus* med og uten lysstimulus?

## 2 Materialer og metode

### 2.1 Håndtering og klekking av eggstrenger

Eggstrenger ble oppbevart og klekket i en type gjennomstrømmingsklekkeri, ytterligere beskrevet i masteroppgaven til Furberg (2022). Klekkeriet besto av et kar med sjøvann og nummererte inkubatorrør med planktonfilter i topp og bunn (150  $\mu\text{m}$ ). Rørene var 50 ml sentrifugerør (VWR). Planktonfilteret på toppen og bunnen av rørene tillot gjennomstrømming av vann. Gjennomsnittstemperatur i klekkeriet var 9,9 °C (SD = 0.7) i forsøksperioden. Vannet hadde en gjennomsnittlig salinitet på 32,8 ppt (SD = 0.4). Vannet ble kontinuerlig hentet fra 78 m dyp i Trondheimsfjorden. En kultur med *C. elongatus*, linje CeSørøya (opprinnelse i PO 12) ble holdt på Atlantisk laks på NTNU Sealab. Laksen ble holdt i ca. 380 L store kar, og røktet daglig. Dette inkluderte tilsyn av fisk, målinger av temperatur og oksygennivå, samt renhold og fôring. Hold av laks og lusebelastning er regulert av godkjent forsøksdyrtillatelse (FOTS ID 29582).

For å frembringe *C. elongatus* larver ble det benyttet eggstrenger fra lus av 2. og 3. generasjon i kultur. Plukking av eggstrenger skjedde ved at fisken ble bedøvet med Benzoak vet. (0,25 mL/liter vann), før eggstrenger fra voksne hunnlus ble plukket av med pinsett (Dumont #7 Forceps, Dumostar). Etter plukking, ble eggstrengene lagt samlet i et inkubatorrør i klekkeriet. På grunn av planktonfilteret holdt eggstrengene og de klekkede larvene seg intakt inni røret. Klekkeaktiviteten ble kontrollert daglig i perioden eksperimentet ble utført, og larvene ble sortert etter klekkedato. Dette ble gjort ved at eggstrenger som ikke var klekt, ble flyttet over i et nytt rør daglig med pinsett. Larvene som var samlet i ett rør hadde dermed lik klekkedato, men de kunne stamme fra ulike hunnlus. På den måte kunne utviklingsstadium beregnes basert på temperaturen i klekkeriet, i tillegg til visuell undersøkelse av larvene i stereolupe.

### 2.2 Salinitetstoleranse ved bioassay

Toleranse for lav salinitet ble undersøkt ved å utføre en serie av bioassay og dokumentere antall mobile copepoditter. Bioassay ble gjennomført i henhold til metoden utviklet av Andrews og Horsberg (2020). Totalt ble det gjennomført tre replikater av én serie på 10 saliniteter. I tillegg til en kontroll med sjøvann (32 ppt), ble det brukt følgende saliniteter: 27, 23, 20, 17, 14, 11, 8, 5, og 2 ppt. Til hver eksponering ble det benyttet 10 copepoditter klekket frem i klekkeriet beskrevet i 2.1, innen 4 dager etter at de gikk over til copepodittstadiet. Det ble brukt nye individer til hver eksponering. Vannet som ble benyttet hadde en temperatur på 12°C. Saltvann ble hentet fra klekkeriets inntaksvann, og det ble benyttet destillert vann til fortykning for å oppnå riktig salinitet.

Copepodittene ble raskt tilsatt i 50 mL polypropylen-plast sentrifugerør med konisk bunn (Falcon), sammen med sjøvann ved hjelp av en plastpipette. Deretter ble det tilsatt destillert vann i tre trinn over en periode på to minutter for å oppnå ønsket salinitet (Tabell 2), etter metoden beskrevet av Hansen (2022). Destillert vann ble tilsatt ved hjelp av en vekt (Ohaus, PRSeries) for å oppnå større nøyaktighet ( $\pm 0,0005$ ). Volumet til vannet ble beregnet på bakgrunn av antakelsen om at sjøvann hadde en tetthet på 1,025 ganger tettheten av destillert vann. En stoppeklokke ble brukt for å sørge for at tiden mellom hver fortykning var ca. 1 minutt for alle saliniteter. Rørene ble deretter oppbevart i et klimaskap. Inklubasjonstemperaturen gjennom eksperimentet var 12°C



(SD = 0.3). Dette sørget for at innholdet i rørene holdt en konstant temperatur. Her fikk rørene stå uforstyrret i 24 timer.

**Tabell 2: Mengde saltvann (32 ppt) og destillert vann (Dest. vann) som ble tilsatt ved ulike trinn i bioassay. Ulik mengde destillert vann ble tilsatt i tre trinn (1, 2, 3) ved hjelp av stoppeklokke og vekt. Dette ble gjort for 9 saliniteter, i tillegg til en kontroll (\*).**

Salinitet (ppt)	32*	27	23	20	17	14	11	8	5	2
Saltvann (g)	51,25	43,3	36,8	32,1	27,3	22,5	17,6	12,8	8	3,2
Dest. vann 1. (g)	0	2	3	4	6	7	7,5	8	6	3,0
Dest. vann 2. (g)	0	2	4	6	7	9	9	10	12	6,0
Dest. vann 3. (g)	0	3,8	7,1	8,8	10,4	12,1	16,3	19,5	24,2	37,9

Etter 24 timer ble copepodittene overført til et veieskip for å undersøke andelen påvirkede og upåvirkede lus. Overføring av lus ble gjort med en manuell pipette (1mL, VWR). Tegn til aktiv eller inaktiv svømmeadferd ble studert under stereolupe i sterkt lys. Vannmassene rundt copepodittene ble også forstyrret for å bedre kunne klassifisere individene som påvirket eller upåvirket. Individuer som responderte raskt og viste tegn til normal svømmeadferd ble klassifisert som mobile (ikke påvirket). Individuer som ikke viste aktiv svømmeadferd, og som heller ikke responderte ved forstyrring av vannmassene rundt, ble klassifisert som immobile (påvirket).

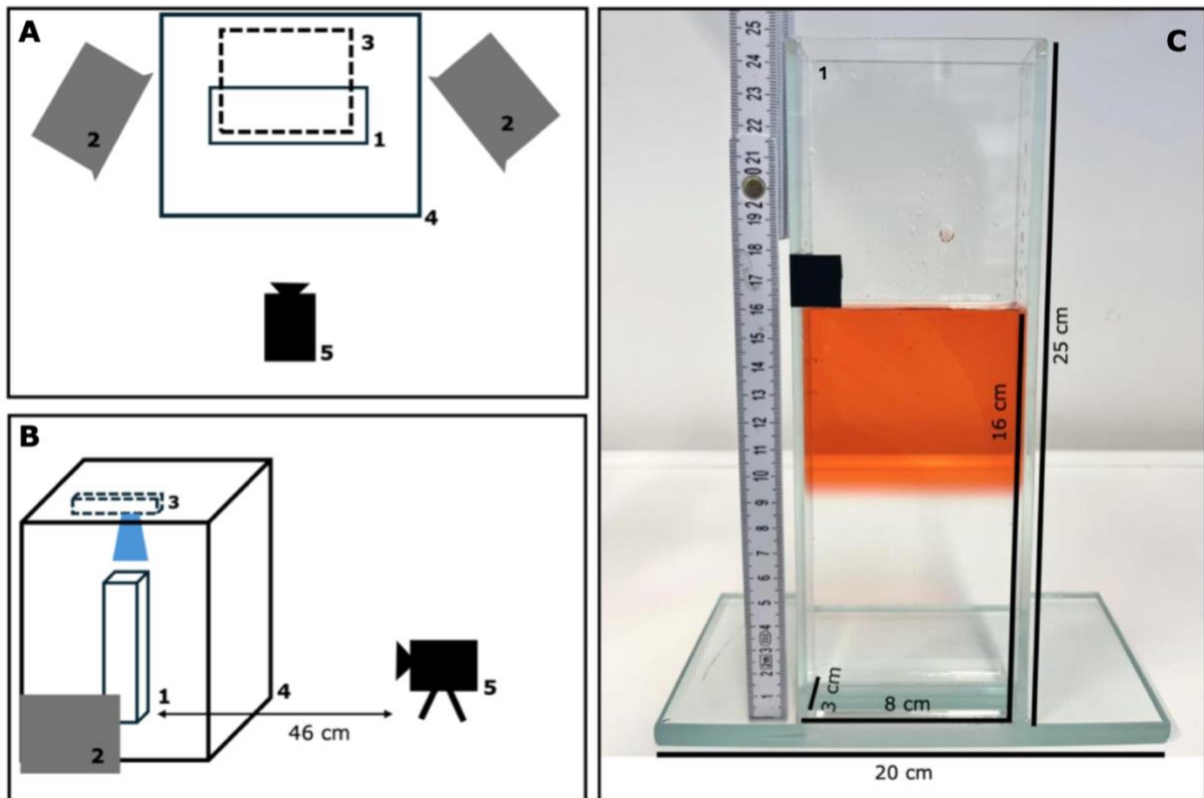
## 2.3 Adferdsmønster i vertikale salinitetsgradienter

### 2.3.1 Etablering av haloklin og opptak av luselarvenes adferd

For å teste hvordan trinnvise salinitetsgradienter påvirket larvestadier til *C. elongatus* ble det utviklet et vertikalt oppsett basert på metoden etter Crosbie et al. (2019). Utformingen hadde som formål å etablere en vertikal salinitetsgradient, og undersøke larvenes fordeling i denne gradienten. Det ble laget en haloklin ved å tilsette brakkvann med saliniteter mellom 30–16 ppt på toppen av et lag sjøvann med fast salinitet lik 32 ppt. I tillegg ble det laget en kontroll med bare sjøvann (32 ppt) i en isohalin kolonne. Larvene ble tilsatt etter haloklinen var etablert ved hjelp av en 30 cm lang plastpipette. Oppsettet ble oppbevart i klimarom, slik at vannet i akvariet holdt en konstant temperatur på ca. 12°C.

Akvariet som ble benyttet var av 4 mm soda-glass satt sammen med akvariesilikon. Det hadde innvendige dimensjoner 8x3x25 cm (Figur 2C). Selve akvariet var festet på kanten av en bunnplate laget av samme type glass, med størrelse 10x20 cm. Bak akvariet ble det plassert en sort plate i mosegummi for å oppnå jevn bakgrunn og god kontrast. Under ble det plassert en sort plate med markering for å sørge for lik plassering av akvariet hver gang. Rundt oppsettet ble det dekket til med sort duk for å forhindre eventuell lysforurensning.

Det ble laget en serie med halokliner i midtre del av vannsøylen ved å benytte brakkvann med ulik salinitet på toppen, og sjøvann med lik salinitet på bunnen. Total vannhøyde i akvariet var 16 cm. Vannsøylen nederste lag var 32 ppt sjøvann, og det øvre laget varierte med følgende saliniteter: 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 og 32 ppt. For hver salinitet ble det tilsatt totalt 45 larver i tre runder, og det ble etablert en ny haloklin for hver utbytting av larver. Brakkvann med varierende salinitet ble laget ved å kombinere sjøvann fra klekkeriets inntak sammen med destillert vann. Vannet ble temperaturkontrollert til 12 °C. Sjøvannet ble hentet fra klekkeriets inntaksvann. Haloklinen ble dannet ved å først fylle kolonnen opp til 11 cm med sjøvann (32 ppt), før brakkvann ble tilsatt sakte ved bruk av en 30 cm lang plastpipette og en spruteflaske. Dette resulterte i et skille mellom sjøvannet i bunnen og brakkvannet på toppen. Haloklinene som ble dannet var lokalisert i ca. 9,5 cm høyde i akvariet (Figur 2C). Etter haloklinen var etablert, ble larvene tilsatt bunnen av akvariet med en lang pipette (30 cm). Dette ble gjort i mørket på klimarom. Deretter ble akvariet satt på plass og oppsettet fikk stå uforstyrret i mørket. Luselarvene ble filmet i mørket i 30 sekunder før lyset over akvariet ble skrudd på (mørkeperiode). Deretter ble det filmet ytterligere 1,5 minutt (lyperiode), slik at det totale videoopptaket var på 2 minutter.



**Figur 2: Skjematisk fremstilling av oppsettet som ble brukt til å undersøke adferdsmønstre i vertikale salinitetsgradienter sett ovenfra (A) og fra siden (B), samt et bilde av akvariet med en etablert haloklin med fargestoff for å visuelt detektere salinitetsgradienten (C). Det eksperimentelle oppsettet bestod av et akvarium (1), to infrarøde lyskastere (2), lysstimulus (3) over akvariet festet til en åpen ramme (4), og et kamera (5).**

På siden av akvariet ble det plassert to infrarøde lyskastere (110–230 V, 140 High Power IR-lysdioder), én på hver side. Lyskasteren på venstre siden var plassert 17 cm unna akvariet, og lyskasteren på høyre siden hadde 10 cm avstand fra akvariet (Figur 2A). Ved

hjelpe av disse var det mulig å visuelt detektere luselarvene i kolonnen ved videoopptak, uten å forstyrre adferdsresponsen til luselarvene med lysstimuli. IR-lys ble brukt da det ikke er synlig for lusa, men blir reflektert av lusas eksoskjelett. Luselarvene ble dermed godt synlig på videoopptak. 14 cm over toppen av akvariet (23 cm over vannflaten) ble det plassert lysstimulus i form av en RGBW/LED lyskaster (Adafruit NeoPixel NeoMatrix, Arduino) koblet til en Arduino Uno Rev3 Development Board (Adafruit). Disse komponentene ble montert inni en 3D-printet boks utviklet av Stephen Grant (NTNU). En stasjonær datamaskin med Arduino Uno programvare ble brukt for å programmere lyset uten å forstyrre miljøet rundt forsøket (Vedlegg A). Det ble benyttet 14 aktive dioder i to rader direkte over akvariet. Lysintensiteten ble målt til  $0,0326 \text{ W/m}^2$  ved bølgelengde 462,38 nm, som tilsvarer en nyanse av blått lys. Larvenes bevegelse ble filmet ved hjelp av et videokamera (ORX-10GS-51S5M-C, Oryx) med en 16 mm linse (M112FM16, Tamron) som var plassert 46 cm fra akvariets front (Figur 2B). Til kontroll av kamera ble SpinView programvare (versjon 3.1.0.79) benyttet. Det ble filmet i både 114 og 120 frames per sekund.

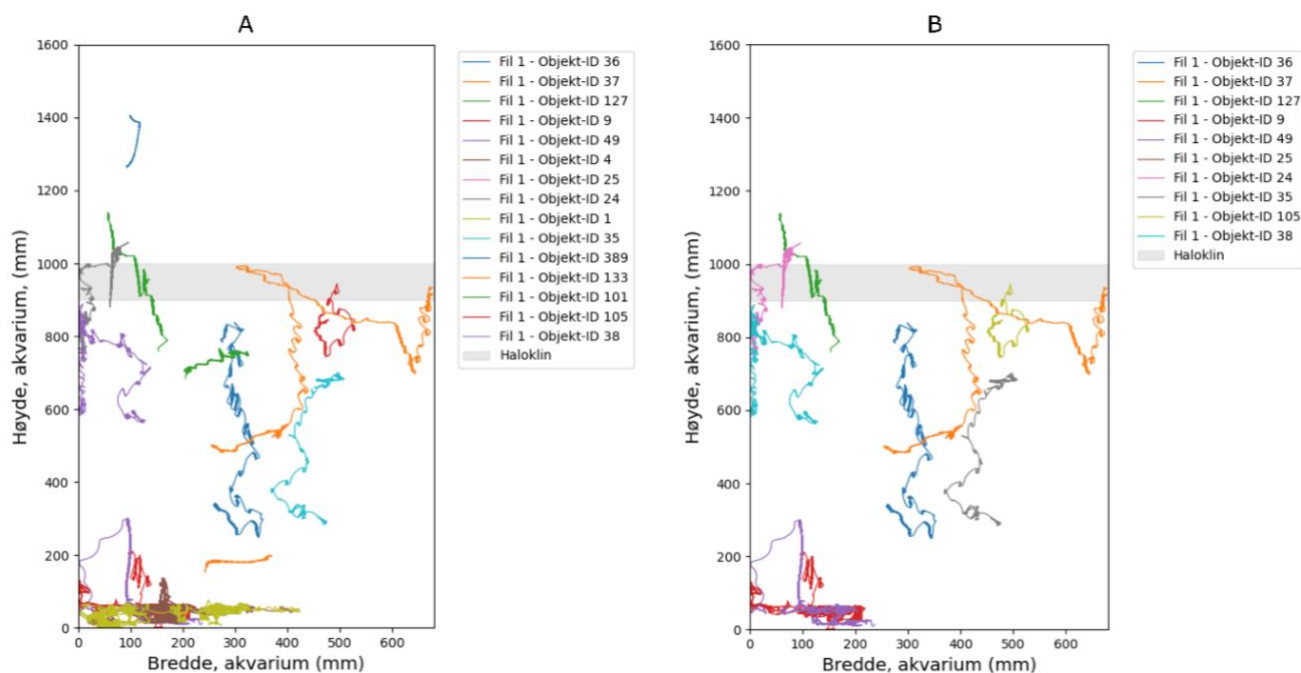
### 2.3.2 Bildebehandling og videoanalyse

Data fra adferdsforsøk med nauplii og copepoditter i halokliner med brakkvannslag ble tatt opp som bildefiler i tiff-format. Mappene med tiff-filer ble videre behandlet i Python (versjon 3.12.2, Python Software Foundation) gjennom Python-scripts utviklet i samarbeid med masterstudent Martin B. Nilsen (Nilsen *in prep.*), og ved bruk av kunstig intelligens (ChatGPT-3.5). Det første scriptet ble utviklet for å analysere en serie bilder etter bevegelse ved hjelp av OpenCV-biblioteket. Hver bildefil ble behandlet gjennom justering av lysstyrke, kontrast og støyreduksjon. Funksjoner fra OpenCV-biblioteket inkluderte *Gaussian Blur* og *threshold*, som bidro til å fjerne støy fra bildene, f.eks. støvpartikler, vannbobler eller lysrefleksjon. Deretter ble det opprettet parametere for videoutskrift, før bevegelsesdeteksjon ble anvendt på hvert bilde. Resultatet var en AVI-video som viste de mest synlige bevegelsene i hvert opptak. Dette scriptet inkluderte alle bevegelsestyper som var mulig å detektere, også en del støy som ble ekskludert senere. Hver videofil ble videre brukt til å lage CSV-filer basert på de mest tydelige bevegelseskonturene. Dette ble gjort ved hjelp av et andre script. For hver videofil ble det dannet to CSV-filer: en med y-koordinater over de mest synlige bevegelsene, og en med x-koordinater for tilsvarende bevegelser. Hver bevegelse ble tildelt et ID-nummer som gjorde det mulig å identifisere bevegelsen i videre dataanalyse.

Før videre databehandling ble det regnet om fra pixler til mm der omregningsfaktoren (mm/pixler) ble funnet ved å måle opp kjente størrelser (akvariets høyde og bredde). Dermed kunne x- og y-koordinatene fra CSV-filene plottes som punkter i et koordinatsystem tilsvarende akvariets dimensjoner (Figur 3). Koordinatene til hver bevegelse ble plottet før videre databehandling. Gjennom visuell gjennomgang av videofilene, var det mulig å ekskludere vekk bevegelser som ikke var lus (Figur 3B). Ekskluderingskriterier var de samme for alle datasett, og noen typer spor ble fjernet fra alle datasett:

- Spor som blandet seg med spor av lysrefleksjon i akvariumglasset. Ofte observert som svært rette linjer langs kanten av plottet.
- Sport kortere enn 200 mm, der det ikke var mulig å skille mellom lus og støy. Eksempel på dette er objekt 389 (Figur 3A).
- Spor av lus uten aktiv svømmeaktivitet på bunnen.

- Spor som ikke var lus, som ble visuelt identifisert basert på sammenligning av tiff-bilder, videofilen og koordinatene oppført i CSV-filene. Som regel synlig som svært rette linjer. Eksempel på dette er objekt 133 (Figur 3A).



**Figur 3: Eksempel på plott basert på x- og y-koordinater for bevegelsesdeteksjon i akvariet (salinitet 18 ppt, replikat 3, copepoditt). Datasett A viser de 15 mest synlige bevegelsene med tilhørende objekt-ID. Datasett B viser det samme datasettet etter ekskludering av spor basert på ekskluderingskriterier.**

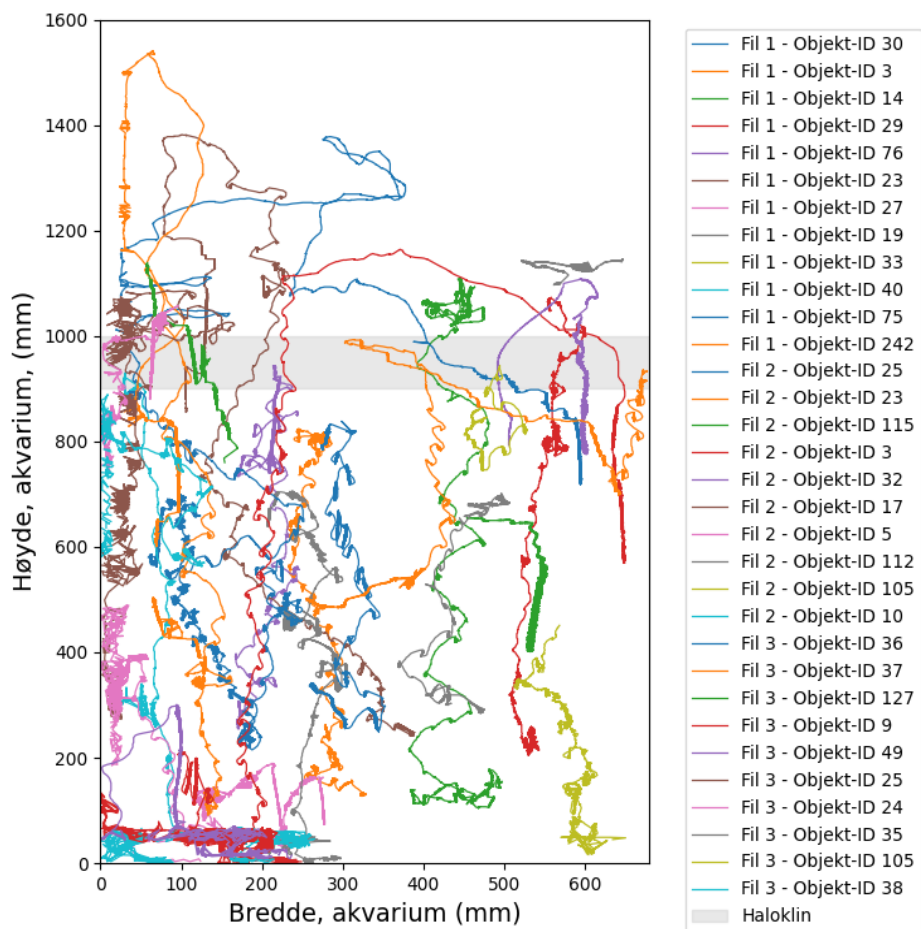
For at alle datasett skulle bli behandlet likt i videre analyser ble det i tillegg til ekskludering gjort et utvalg av datasettet med utgangspunkt i tidspunktet for lysstimulus. Dette var basert på varierende bildenummer for lyseksposering, samt lengde på datasettene for hver eksponering. I tillegg ble noen av eksponeringene tatt opp i 120 frames per sekund (FPS), og noen tatt opp i 114 FPS. Dermed ble det hentet ut et utvalg av bilder som tilsvarte 20,8 sekunder før lysstimulus, og 81,6 sekunder etter lysstimulus for alle behandlinger (Tabell 3).

**Tabell 3: Antall bilder for opptak gjort i 120 og 114 bilder/sekund (FPS). Det ble hentet ut ulikt antall bilder fra mørkeperioden (20,8 sekunder) og lysperioden (81,6 sekunder) før videre databehandling.**

	<b>120 FPS</b>	<b>114 FPS</b>
<b>Mørkeperiode (20,8 sek.)</b>	2500 bilder	2375 bilder
<b>Lysperiode (81,6 sek.)</b>	9800 bilder	9302 bilder

Behandlede datasett fra tre replikater ble slått sammen for å øke mengden synlige spor for hver salinitet. Opptak av larvenes bevegelse måtte skje i tre replikater/runder, ettersom bevegelsesdeteksjon ville blitt utfordrende dersom 45 larver skulle bli filmet samtidig. I databehandlingen var det mulig å detektere identiteten til hver lus (objekt-

ID), samt hvilket replikat den kom fra (Fil x) (Figur 4). Dette ble gjort med datasettene for både nauplier og copepoditter.



**Figur 4: Eksempel på individuelle spor fra tre replikater representert i samme plot (copepoditt, 18 ppt). Posisjonen til alle synlige lus ble samlet før videre databehandling, og er visualisert i forhold til akvariets høyde og bredde. Det grå området markerer der salinitetsendringen var størst, altså mellom 900-1000 mm høyde (haloklinen).**

## 2.4 Databehandling og statistisk analyse

Resultatet fra bioassay ble loggført og sortert i Microsoft Excel (versjon 16.83, Microsoft Office). Deretter ble datasettet importert til RStudio (versjon 2023.12.1+402, RStudio 2022) i R (4.2.3 GUI 1.79, R 2021) for videre behandling. Det ble undersøkt om det var en signifikant sammenheng mellom mengde mobile copepoditter og salinitet (one way ANOVA).

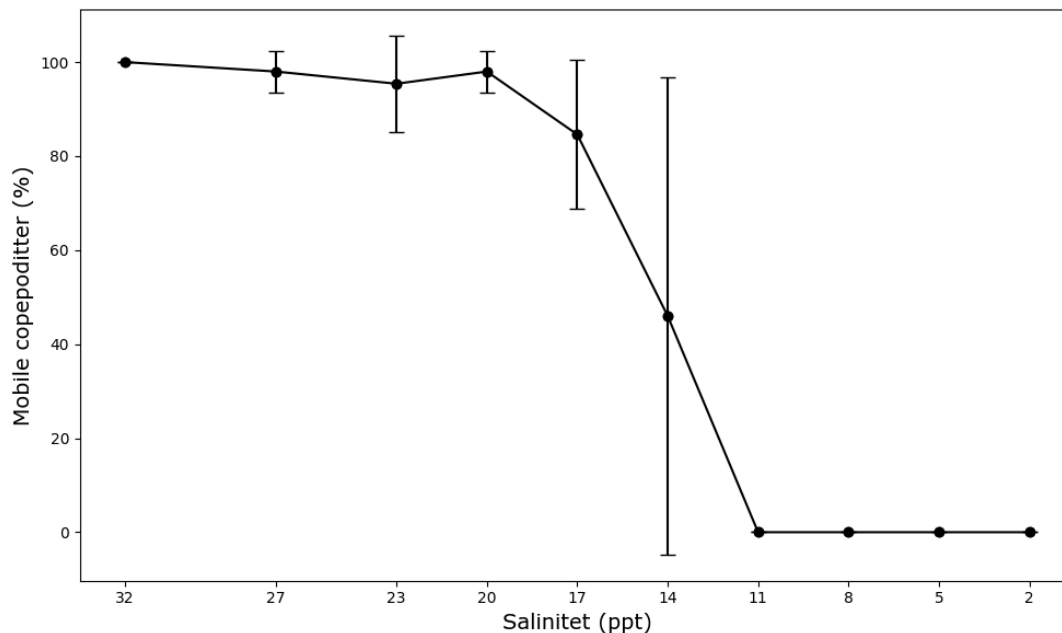
Datasettene fra adferdsforsøk med nauplii og copepoditter i halokliner ble videre behandlet i Python (versjon 3.12.2, Python Software Foundation) og i RStudio (versjon 2023.12.1+402, RStudio 2022) i R (4.2.3 GUI 1.79, R 2021). All bevegelsesdeteksjon av luselarver ble gjort ved å se på individuelle bevegelsesspor som var slått samme for tre replikat, se 2.3.2. Gjennomsnittlig posisjon i vertikalretning ble undersøkt for alle

saliniteter ved å plotte y-koordinatene som et løpende gjennomsnitt. Basert på koordinatene i CSV-filene ble det også beregnet hastighet ved hjelp av euklidisk geometri. Dette ble gjort ved å finne avstanden mellom posisjonen til hvert individ mellom hvert 20. bilde og beregne hastighet i mm/sek. Deretter ble gjennomsnittet av alle hastighetsberegningene funnet både mørkeperioden og lysperioden. Dette ble gjort for både nauplii og copepoditt.

## 3 Resultat

### 3.1 Salinitetstoleranse ved bioassay

Ved høye saliniteter, fra 32 ppt ned til 20 ppt, ble det observert gjennomsnittlig 95–100% mobile copepoditter (Figur 5). Ved salinitet 17 ppt var gjennomsnittlig mengde mobile copepoditter 85% (SD = 15), og ved 14 ppt var den 46% (SD = 50). I overgangen fra høy andel mobile copepoditter (>85%) og lav andel mobile copepoditter (46%) var det stor variasjon mellom replikatene. Ved salinitet 11 ppt og lavere, var prosent mobile copepoditter 0% for alle gruppene. Effekten av salinitet på andelen mobile copepoditter var statistisk signifikant (ANOVA,  $p < 0.001$ , Vedlegg B1). Effekten av salinitet på andel mobile copepoditter var signifikant forskjellig fra kontrollen ved 14 ppt og lavere (Tukey HSD test,  $p < 0.05$ , Vedlegg B2).



**Figur 5: Gjennomsnittlig andel mobile copepoditter (%) av *C. elongatus* etter 24 t eksponering for ulike saliniteter (32–2 ppt), med tilhørende standardavvik (SD).**

### 3.2 Adferdsmønstre i vertikale salinitetsgradienter

Det ble detektert ulikt antall bevegelsesspor av lus i hver eksponeringsgruppe (Tabell 4). Det totale antall synlige lus i den videre dataanalysen ble dermed forskjellig for alle eksponeringer. Enkelte saliniteter hadde få synlige lus, og det laveste registrerte antallet var 15 lus for naupliuslarvene (32 ppt, kontroll), og 20 lus for copepodittene (16 ppt). Høyest antall registrerte luselarver var 34 lus for naupliuslarvene (30 ppt), og 32 lus for copepodittene (18 ppt). For både copepoditter og nauplii ble det totalt tilsatt 45 larver for hver salinitet.

**Tabell 4: Antall detekterte spor av nauplier og copepoditter for alle saliniteter. Tre replikater (halokliner) ble gjennomført for hver salinitet, og det totale antallet synlige lus ble ulikt for hver eksponering da replikatene ble slått sammen.**

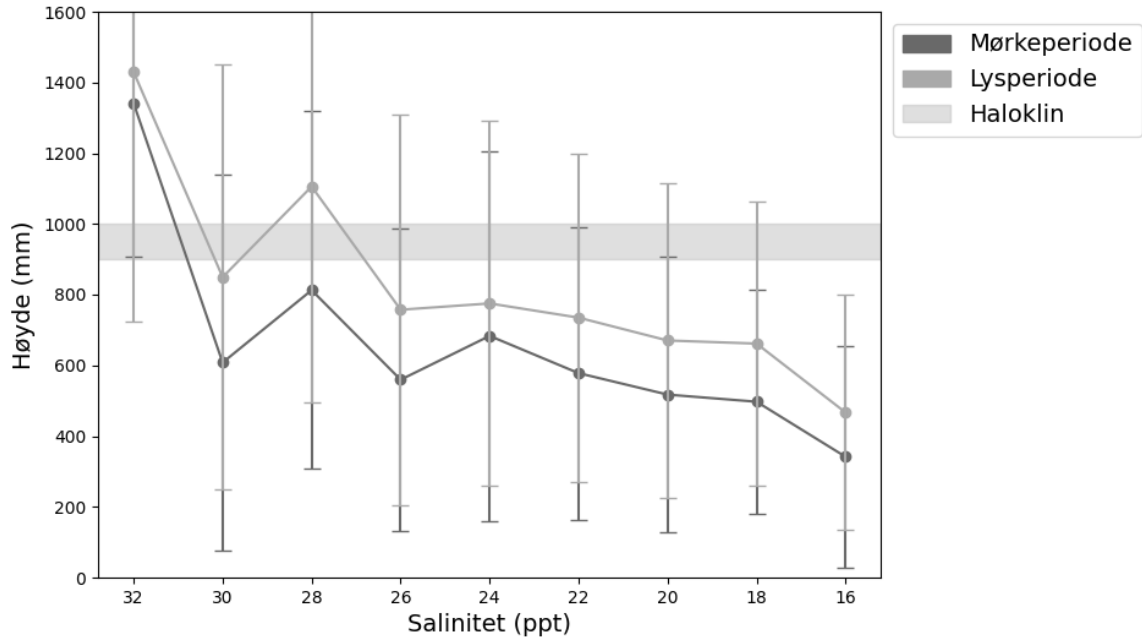
Utviklingsstadium	Salinitet (ppt)	Antall synlige lus			
		Replikat1	Replikat2	Replikat 3	Totalt
Nauplii	32*	4	9	7	15
	30	10	13	10	33
	28	10	3	7	20
	26	12	9	10	31
	24	10	13	11	34
	22	12	3	12	27
	20	13	10	8	31
	18	14	9	10	33
	16	9	10	14	33
Copepoditt	32*	7	10	1	18
	30	7	8	8	23
	28	6	7	3	16
	26	6	9	4	19
	24	12	9	2	23
	22	11	12	2	25
	20	7	14	9	30
	18	12	10	10	32
	16	4	9	7	20



### 3.2.1 Adferdsmønstre hos copepoditter

Copepodittenes gjennomsnittlige posisjon i vertikalretning viste en tydelig sammenheng med saliniteten i brakkvannslaget (Figur 6). I mørkeperioden hadde copepodittene i kontrollen (32 ppt, isohalin kolonne) gjennomsnittlig vertikalposisjon på 1341 mm, som var over haloklinen (>1000 mm). Dette var den høyeste gjennomsnittlige vertikalposisjonen av alle salinitetene i mørkeperioden. For de resterende salinitetene (30–16 ppt), var den gjennomsnittlige vertikalposisjon i mørkeperioden under haloklinen (300–900 mm høyde). Copepodittenes gjennomsnittlige avstand fra haloklinen økte med lavere salinitet i brakkvannslaget. Det vil si at en større del av copepodittene oppholdt seg i saltvannslaget (<900 mm), som var 32 ppt for alle eksponeringer. Den totalt laveste gjennomsnittlige vertikalposisjonen ble observert i mørket ved 16 ppt (341 mm). Ved 16 ppt oppholdt copepodittene seg altså i gjennomsnitt i saltvannslaget (32 ppt).

I tillegg til forskjeller i salinitetsrespons, ble det også observert forskjeller i lysrespons for ulike eksponeringer. Copepodittene hadde ulik gjennomsnittlig vertikalposisjon i mørkeperioden (20,8 sek.) og i lysperioden (81,6 sek.) (Figur 6). Sammenlignet med mørkeperioden, var gjennomsnittlig vertikalposisjon til copepodittene høyere i lysperioden, og dette gjaldt alle saliniteter. Gjennomsnittlig vertikalposisjon for lysperioden fulgte samme trend som den for mørkeperioden, men med høyere verdier for alle saliniteter. Den totalt høyeste gjennomsnittlige vertikalposisjonen var 1453 mm, og ble observert i kontrollen (32 ppt). I kontrollen ble det også observert minst forskjell i vertikalposisjon mellom mørkeperioden og lysperioden (88 mm). Ved 30, 28 og 26 ppt økte også forskjellen i gjennomsnittlig vertikalposisjon i mørkeperioden og lysperioden med hhv. 242, 293 og 198 mm. Den laveste gjennomsnittlige vertikalposisjonen i lysperioden var ved 16 ppt, og her var forskjellen mellom mørkeperioden og lysperioden 118 mm. Effekten av salinitet på gjennomsnittlig posisjon i vertikalretning for alle sporede individer var signifikant, både i mørkeperioden og lysperioden (ANOVA,  $p < 0.001$ , Vedlegg B3). Alle saliniteter utenom 28 ppt, hadde også en signifikant effekt på copepodittenes vertikalposisjon under lysperioden sammenlignet med kontrollen (Tukey HSD test,  $p < 0.05$ , Vedlegg B4). Under mørkeperioden hadde alle salinitetene en signifikant effekt på copepodittenes gjennomsnittlige vertikalposisjon sammenlignet med kontrollen (Tukey HSD test,  $p < 0.05$ , Vedlegg B5).

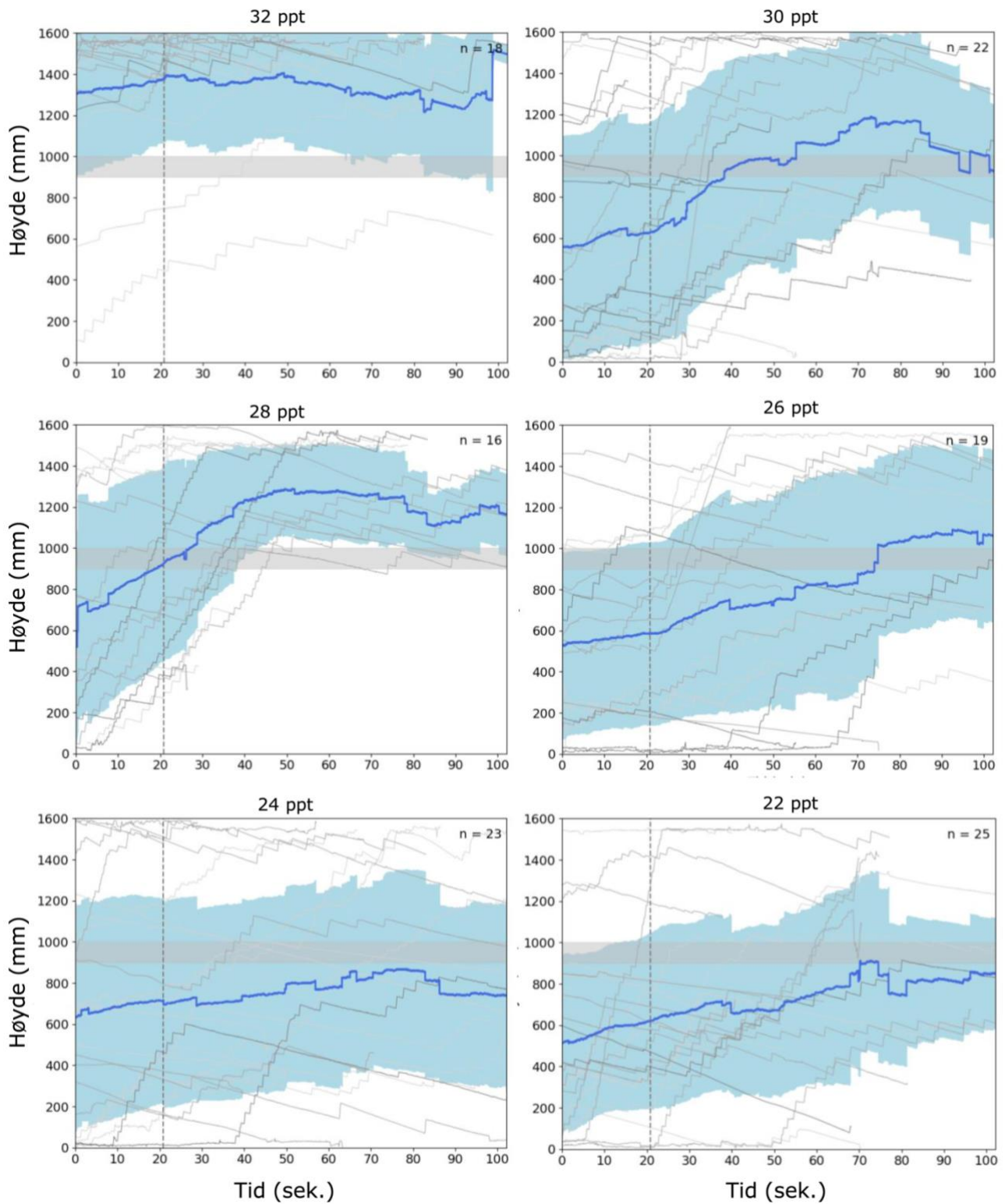


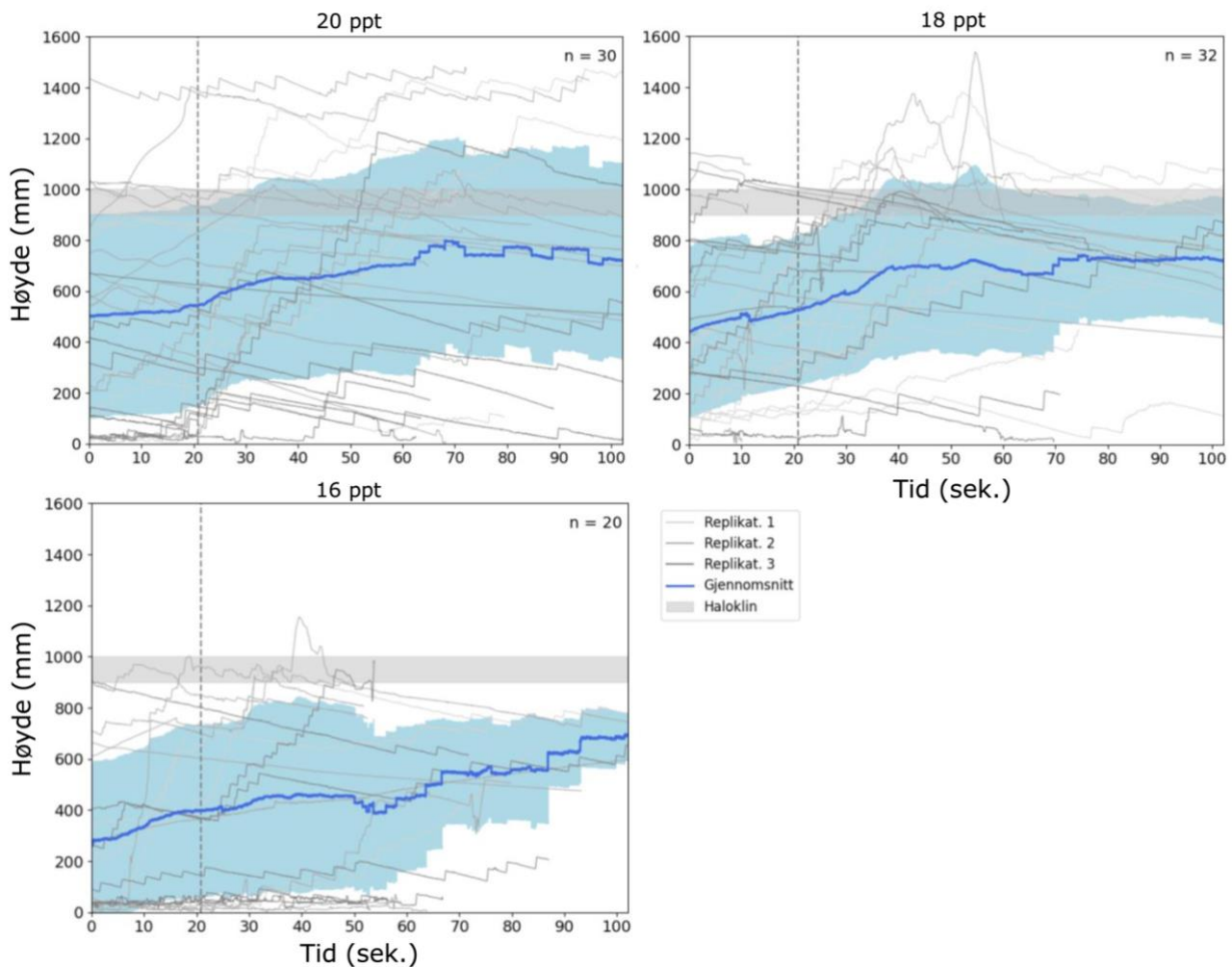
**Figur 6: Gjennomsnittlig posisjon i vertikalretning (mm) til copepoditter i mørkeperioden og lysperioden for ulike saliniteter i brakkvannslaget, samt isohalin kontroll (32 ppt). Grått område markerer der salinitetsendringen er størst (haloklinen). Standardavvik (SD) beregnet for alle sporede individer.**

Løpende gjennomsnittsposisjon i vertikalretning ble beregnet for hvert sekund (120 bilder) av alle individuelle spor for å observere endring over tid (Figur 7). Dette ble gjort for både mørkeperioden (20,8 sek.) og lysperioden (81,6 sek.). Det ble også plottet individuelle spor for alle observerte copepoditter som et løpende gjennomsnitt av 20 bilder av gangen (Figur 7). Løpende gjennomsnitt ble benyttet for å observere variasjoner i adferd på et mer detaljert nivå. Tilnærmet alle copepodittene i kontrollen (32 ppt, isohalin kolonne) hadde under mørkeperioden en høy posisjon i akvariet (>1200 mm), og befant seg da i det øvre vannlaget. Her viste flere individer aktiv svømmeadferd, som er synlig ved å se på individuelle spor i vertikalretning over tid (Figur 7). Copepodittenes karakteristiske rykkvise svømmebevegelser var synlig som små hopp i sporene til individene som svømte aktivt. I mørkeperioden ved 30 og 28 ppt var copepodittene mer jevnt fordelt i vannsøylen sammenlignet med kontrollen. Ved saliniteter lavere enn dette (26–16 ppt) svømte copepodittene generelt sett ikke i brakkvannslaget i mørkeperioden, med noe individuell variasjon. Svært få individer ble observert i brakkvannslaget for salinitet 20, 18 og 16 ppt under mørkeperioden.

Da lysperioden startet etter 20,8 sekunder, fortsatte copepodittene i kontrollen å svømme aktivt i øvre delen av akvariet (>1200 mm). I en isohalin vannsøyle svømte altså copepodittene til toppen av vannsøylen og ble der uavhengig av lysstimulus. Da ble det heller ikke observert endringer i adferd når lysperioden startet, ettersom copepodittene allerede hadde en høy vertikalposisjon. For saliniteter lavere enn 32 ppt, altså da brakkvannslaget var til stede, ble det observert en endring i adferd da lysperioden startet. Da saliniteten i brakkvannslaget var 30 og 28 ppt, svømte copepodittene opp mot lysstimuluset, og aggregerte i brakkvannet over haloklinen (>1000 mm). Lysresponsen var mindre tydelig for salinitet 26–16 ppt, da færre lus svømte gjennom haloklinen og opp i brakkvannet (>1000 mm). Under 26 ppt unngikk copepodittene generelt brakkvannslaget i stor grad. Denne responsen ble svært tydelig ved salinitet 18 og 16 ppt. Da responderte kun enkelte copepoditter på lysstimulus ved å

svømme opp i brakkvannslaget. Individene som svømte opp i brakkvannet, svømte deretter ned i saltvannslaget igjen, og oppholdte seg i området med fullt salint sjøvann (32 ppt) ut perioden.





**Figur 7: Løpende gjennomsnittsposisjon i vertikalretning for copepoditter over tid ved alle saliniteter (32–16 ppt). Grå spor viser bevegelsesmønstre i vertikalretning for alle synlige lus i mørkeperioden (20,8 sek.) og lysperioden (81,6 sek.) over en periode på totalt 102 sek. Den vertikale grå linjen representerer endring i lysstimulus. Grått område markerer haloklinens plassering (900–1000 mm). Under haloklinen var saliniteten 32 ppt for alle eksponeringer, mens saliniteten i brakkvannet over haloklinen varierte. Løpende gjennomsnitt med standardavvik ble beregnet per sekund (120 bilder), og alle individuelle bevegelsesspor er vist som et løpende gjennomsnitt av 20 bilder.**

Gjennomsnittshastigheten til alle copepodittene ble beregnet i mm/sek (Tabell 5), som beskrevet i 2.4. Saliniteten hadde en effekt på copepodittenes gjennomsnittshastighet for både mørkeperioden og lysperioden (ANOVA,  $p < 0.001$ , Vedlegg B6). Under mørkeperioden ved 32–28 ppt hadde alle copepodittene en gjennomsnittshastighet på hhv. 24.1, 19.5, og 26.3 mm/sek. For de resterende salinitetene var det mindre variasjon i gjennomsnittshastighet (13.6–17.1 mm/sek). Copepodittenes gjennomsnittshastighet var signifikant lavere enn kontrollen (32 ppt) for saliniteter lavere enn 20 ppt (Tukey HSD-test,  $p < 0.05$ , Vedlegg B7). Gjennomsnittshastigheten til copepodittene i 30–22 ppt var altså tilnærmet lik gjennomsnittshastigheten til copepodittene i kontrollen. På tilsvarende måte som for mørkeperioden, ble det også beregnet gjennomsnittshastighet for copepodittene under lysperioden (Tabell 5). I 30, 28 og 22 ppt brakkvann hadde copepodittene en gjennomsnittshastighet som var tilnærmet lik kontrollen (Tukey HSD-test,  $p > 0.05$ , Vedlegg B7). Da var gjennomsnittshastigheten høyere sammenlignet med de resterende salinitetene.

Ettersom gjennomsnittshastigheten for de ulike salinitetene under mørkeperioden og lysperioden var tilnærmet lik (t-test,  $p = 0.233$ , Vedlegg B8), ble derfor gjennomsnittshastigheten til alle individer ble også beregnet for den første delen av lysperioden for alle saliniteter (Tabell 5). Denne perioden var tilsvarende lang som mørkeperioden (2500 bilder = 20,8 sek.). Dette var for å undersøke om copepodittene hadde endring i gjennomsnittshastighet rett etter endring i lysstimulus, som ikke gjorde utslag i gjennomsnittshastigheten for den totale lysperioden. Gjennomsnittshastigheten i den første delen av lysperioden var høyere sammenlignet med mørkeperioden og den totale lysperioden. Altså svømte copepodittene i gjennomsnitt raskere i den første perioden med lysstimulus (20,8 sek), sammenlignet med mørkeperioden og den totale lysperioden. Dette gjaldt alle saliniteter (32–16 ppt). Den høyeste observerte gjennomsnittshastigheten (26,3 mm/sek) ble observert i 28 ppt under mørkeperioden. Dersom man ser på gjennomsnittshastigheten til enkeltindivider, var makshastighet for copepodittene 89,2 mm/sek (Vedlegg C). Flere enkeltindivider hadde også høy gjennomsnittshastighet for både mørkeperioden og lysperioden (Vedlegg C), som ikke nødvendigvis ga utslag i det totale gjennomsnittet for saliniteten (Tabell 5).

**Tabell 5: Hastighet i mm/sek for alle copepoditter i halokliner med brakkvannslag (30–16 ppt) samt en isohalin kontroll (32 ppt). Gjennomsnittshastigheten ble beregnet for tre ulike perioder: før lysstimulus (20,8 sekunder), en tilsvarende periode etter lysstimulus (20,8 sekunder), og for den totale perioden med lysstimulus (81,6 sekunder) med tilhørende standardavvik (SD).**

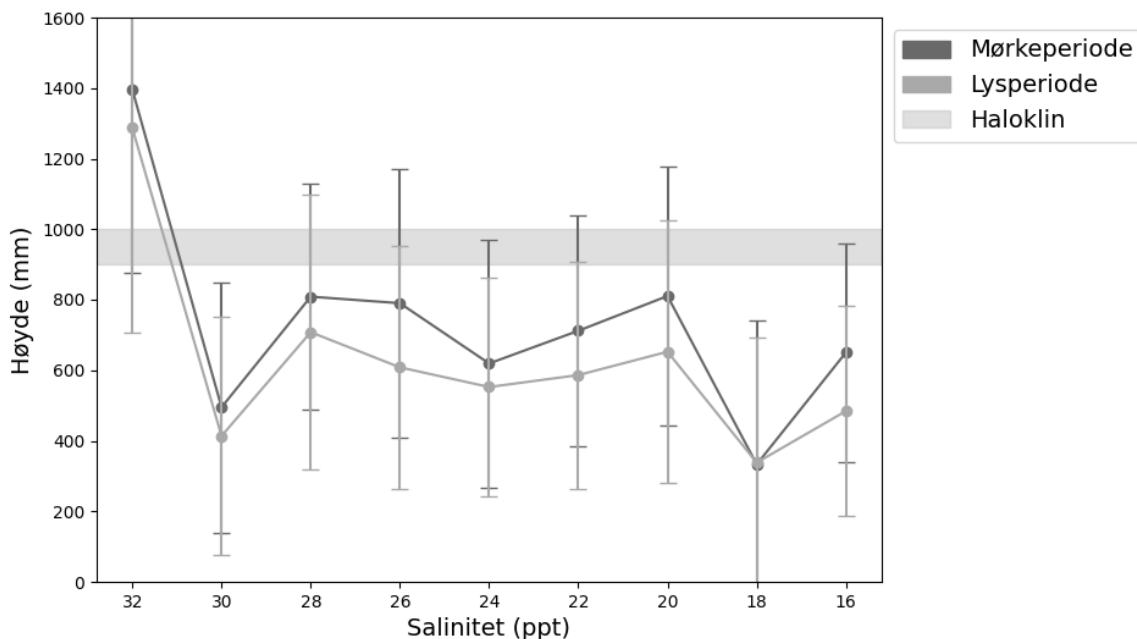
Salinitet (ppt)	Gjennomsnittshastighet (mm/sek)		
	Mørkeperiode (20,8 sek.)	Første del av lysperiode (20,8 sek.)	Lysperiode (81,6 sek.)
32*	24,1 (SD = 7.0)	14,6 (SD = 14.2)	24,1 (SD = 7.0)
30	19,5 (SD = 8.5)	11,5 (SD = 13.6)	19,4 (SD = 8.7)
28	26,3 (SD = 13.4)	17,3 (SD = 12.3)	21,8 (SD = 9.2)
26	16,2 (SD = 6.7)	22,6 (SD = 22.6)	16,1 (SD = 6.7)
24	16,8 (SD = 7.6)	16,4 (SD = 16.2)	16,1 (SD = 6.8)
22	17,0 (SD = 7.9)	17,9 (SD = 17.9)	17,1 (SD = 7.8)
20	15,1 (SD = 6.7)	13,4 (SD = 11.0)	15,1 (SD = 6.8)
18	13,7 (SD = 5.6)	15,8 (SD = 17.5)	13,6 (SD = 5.6)
16	14,8 (SD = 5.1)	17,6 (SD = 17.6)	14,5 (SD = 5.0)

### 3.2.2 Adferdsmønstre hos nauplii

Nauplienes gjennomsnittlige posisjon i vertikalretning under mørkeperioden (Figur 8) viste en signifikant sammenheng med saliniteten i brakkvannslaget (ANOVA,  $p < 0.001$ , Vedlegg B9). Naupliene unngikk vann med salinitet lavere enn 32 ppt i større grad enn copepodittene (Figur 6). Nauplii i kontrollen (32 ppt, isohalin kolonne) hadde en gjennomsnittlig vertikalposisjon lik 1230 mm under mørkeperioden. Dette var den høyeste registrerte gjennomsnittlige vertikalposisjonen totalt. Ved saliniteter mellom 30–

16 ppt unngikk gjennomsnittet av nauplii i mørkeperioden brakkvannslaget, og aggregerte i saltvannslaget (0–900 mm) som var 32 ppt for alle eksponeringer. Da saliniteten i brakkvannslaget var mellom 30–16 ppt, var den gjennomsnittlige vertikalkposisjon ca. 600 mm under haloklinen. Alle brakkvannslag utenom 22 og 20 ppt hadde en signifikant effekt på nauplienes gjennomsnittlige vertikalkposisjon under mørkeperioden sammenlignet med kontrollen (Tuckey HSD-test,  $p < 0.05$ , Vedlegg B10).

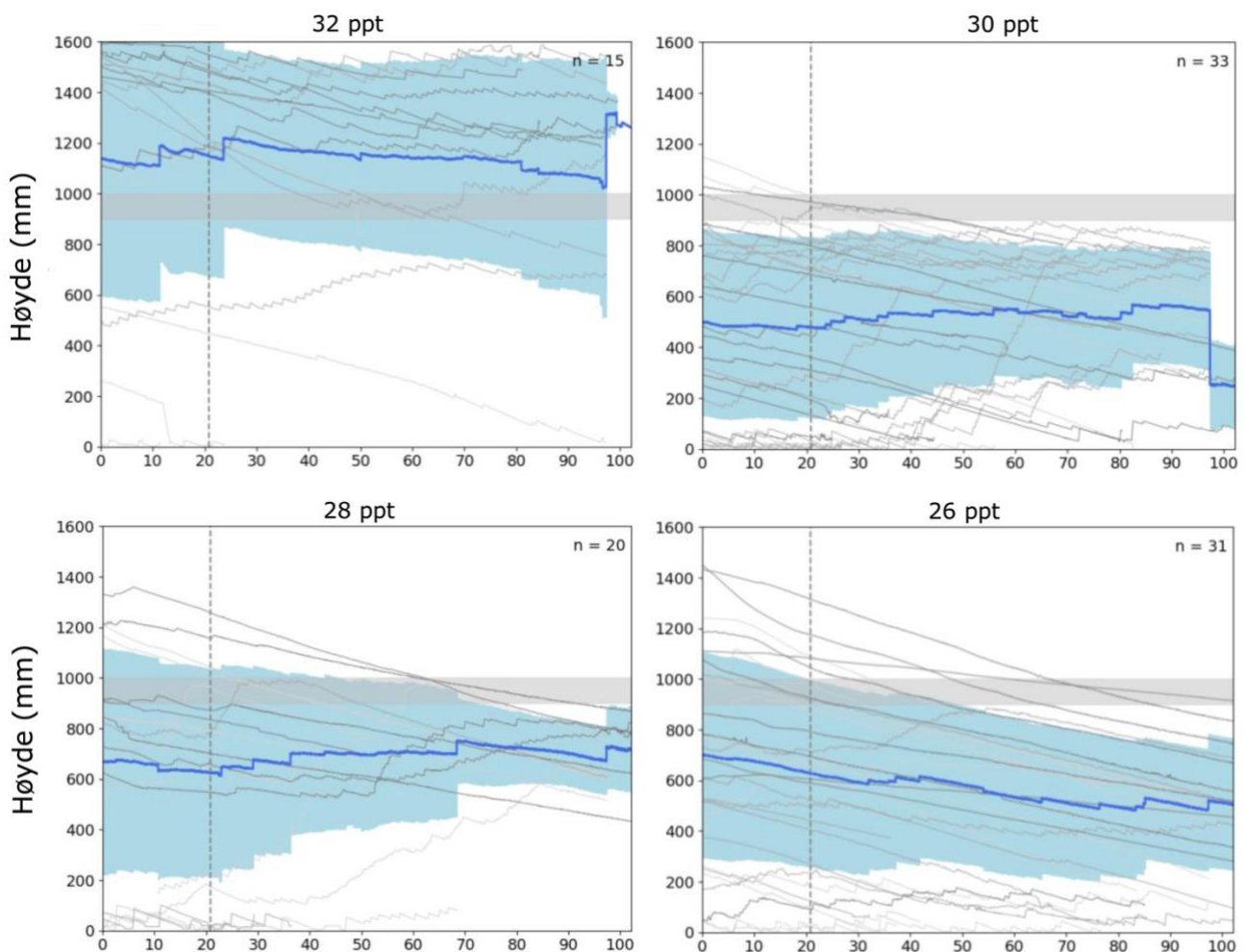
Da lysperioden startet etter 20,6 sekunder, reduserte naupliene i kontrollen (32 ppt) vertikalkposisjonen sin med 105 mm sammenlignet med mørkeperioden. Da saliniteten i brakkvannslaget var mellom 30–16 ppt, var den gjennomsnittlige vertikalkposisjonen under lysperioden lavere i forhold til mørkeperioden. Ved saliniteter lavere enn 32 ppt, aggregerte naupliene i saltvannslaget (0–900 mm, 32 ppt) uavhengig av lysstimulus. Effekten av salinitet på nauplienes gjennomsnittlige vertikalkposisjon under lysperioden var signifikant (ANOVA,  $p < 0.0252$ , Vedlegg B9). I lysperioden ved 30–16 ppt hadde naupliene en gjennomsnittlig vertikalkposisjon som var signifikant lavere sammenlignet med kontrollen (32 ppt) (Tukey HSD-test,  $p < 0.05$ , Vedlegg B11). Den totalt laveste vertikale posisjonen ble registrert hos naupliene i mørkeperioden ved 18 ppt (360 mm).

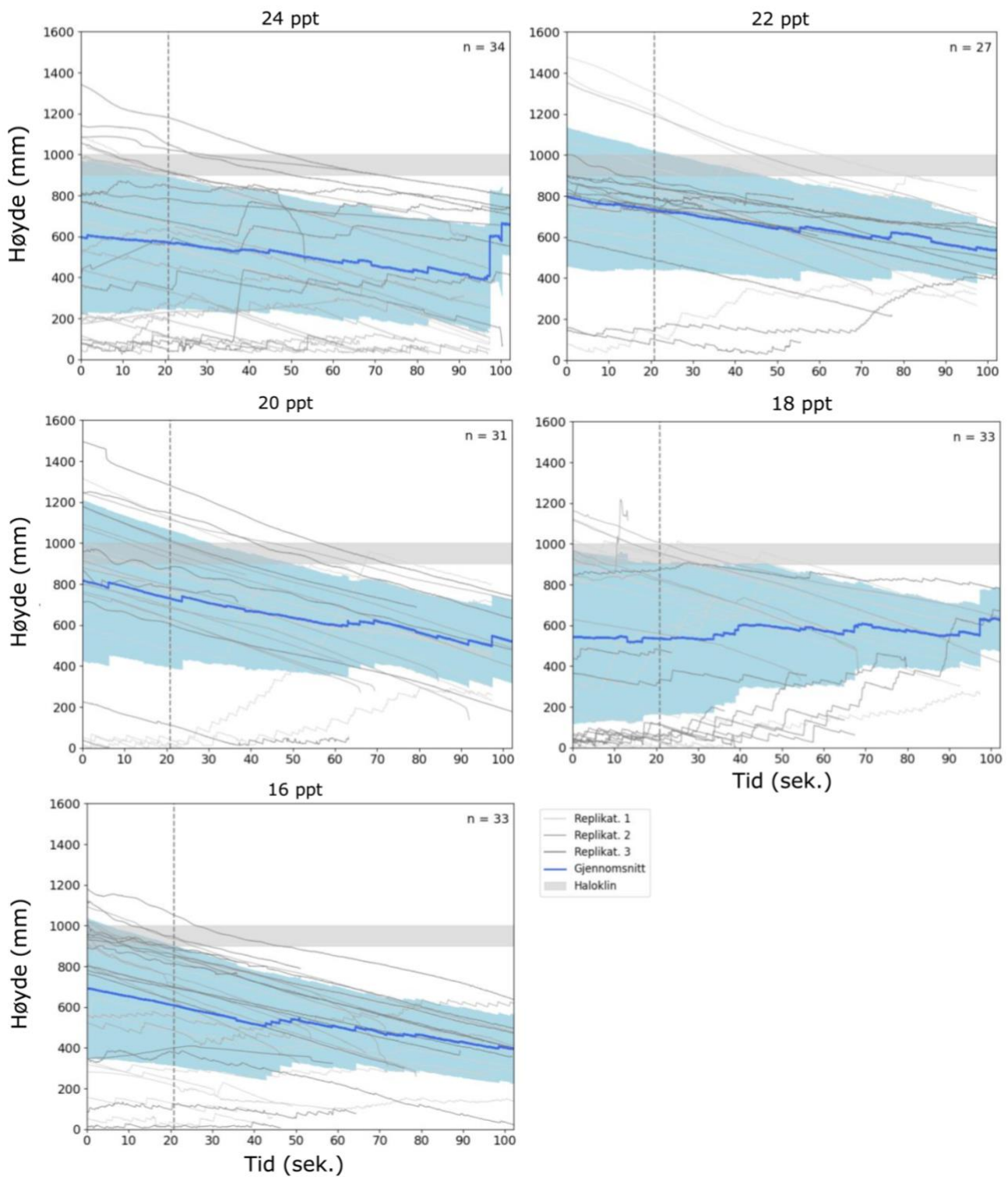


**Figur 8: Gjennomsnittlig vertikalkposisjon (mm) til naupliuslarver i mørkeperioden og lysperioden for ulike saliniteter i brakkvannslaget, samt isohalin kontroll (32ppt). Grått område markerer det salinitetsendringen er størst (haloklinen). Standardavvik (SD) beregnet for alle sporede individer.**

Gjennomsnittlig posisjon i vertikalretning ble beregnet for hvert sekund (114/120 bilder) av alle individuelle spor. Dette ble gjort for å observere endring over tid, både for mørkeperioden (20,8 sek.) og den totale lysperioden (81,6 sek.) (Figur 9). Individuelle spor i vertikalretning for alle observerte nauplier ble plottet med et løpende gjennomsnitt av 20 bilder for å observere individuelle variasjoner i adferd. I kontrollen (32 ppt, isohalin kolonne) viste tilnærmet alle naupliene aktiv svømmeadferd i den øvre delen av vannsøylen (>1000 mm) under mørkeperioden. For salinitet 30–20 ppt var vertikalkposisjonen til enkeltindivider opptil 1500 mm i mørkeperioden. Disse individene viste synkende adferd gjennom hele mørkeperioden, som vil si at de reduserte høyden sin i akvariet ved å ikke svømme aktivt oppover. Dette er synlig som slake, relativt rette linjer som går nedover over tid (Figur 9). Da lysperioden startet etter 20,6 sekunder,

viste naupliene i kontrollen ingen endring i adferd, og fortsatte å svømme aktivt i brakkvannets øvre del (>1000 mm). Naupliene så altså ut til å ha en høy vertikalposisjon i en isohalin kolonne, uavhengig av lysstimulus. Ved salinitet 30 ppt og lavere unngikk naupliene brakkvannslaget, til tross for lysstimulus. I 30 og 28 ppt unngikk naupliene brakkvannet på to måter: nauplii som hadde en høy vertikalposisjon fra start, reduserte vertikalposisjonen sin ved synkende adferd til de nådde saltvannslaget (<900 mm). Nauplii som svømte aktivt oppover i saltvannslaget, stoppet i det de nådde haloklinen (900 mm). For saliniteter lavere enn 28 ppt, hadde naupliene for det meste synkende adferd. Aktiv svømming ble observert i saltvannslaget på 32 ppt (0–900 mm) ble observert for flere individer i saliniteter mellom 30–16 ppt under hele lysperioden.





**Figur 9: Løpende gjennomsnittsposisjon i vertikalretning for nauplier over tid ved alle saliniteter (32–16 ppt). Grå spor viser bevegelsesmønstre i vertikalretning for alle synlige lus i mørkeperioden (20,8 sek.) og lysperioden (81,6 sek.) over en periode på totalt 102 sek. Den vertikale grå linjen representerer endring i lysstimulus. Grått område markerer haloklinens plassering (900–1000 mm). Under haloklinen er saliniteten 32 ppt for alle eksponeringer, mens saliniteten i brakkvannet over haloklinen varierer. Løpende gjennomsnitt med standardavvik ble beregnet per sekund (114/120 bilder), og alle individuelle bevegesspor er vist som et løpende gjennomsnitt av 20 bilder.**



Nauplienes gjennomsnittshastighet ble beregnet slik som for copepodittene (Tabell 6). Naupliene i mørkeperioden hadde gjennomsnittshastighet lik 14,5 mm/sek i kontrollen, som var den høyeste for hele mørkeperioden. Gjennomsnittshastigheten i den totale lysperioden viste seg å være signifikant ulik den for mørkeperioden (t-test,  $p < 0.001$ , Vedlegg B12), selv om samme trend generelt ble observert. Den laveste gjennomsnittshastigheten var ved 26 ppt i lysperioden (7,2 mm/sek). Alle salinitetene (30–16 ppt) hadde en gjennomsnittshastighet som var signifikant lavere enn kontrollen, både i mørkeperioden og lysperioden (Tukey HSD-test,  $p < 0.05$ , Vedlegg B13 & B14). Gjennomsnittshastigheten til naupliene i første del av lysperioden ble også beregnet for alle saliniteter (Tabell 6). Det ble observert lavere gjennomsnittshastighet for nauplii enn for copepoditter ved alle saliniteter, og dette gjaldt alle periodene (Tabell 6).

**Tabell 6: Hastighet i mm/sek for alle nauplier i halokliner med brakkvannslag (30–16 ppt) samt en isohalin kontroll (32 ppt). Gjennomsnittshastigheten ble beregnet for tre ulike perioder: før lysstimulus (20,8 sekunder), en tilsvarende periode etter lysstimulus (20,8 sekunder), og for den totale perioden med lysstimulus (81,6 sekunder) med tilhørende standardavvik (SD).**

Salinitet (ppt)	Gjennomsnittshastighet (mm/sek)		
	Mørkeperiode (20,8 sek)	Første del av lysperiode (20,8 sek)	Lysperiode (81,6 sek)
32*	14,5 (SD = 5.8)	12,2 (SD = 6.5)	14,2 (SD = 5.9)
30	9,0 (SD = 4.2)	7,9 (SD = 13.6)	8,7 (SD = 3.9)
28	9,1 (SD = 2.7)	11,5 (SD = 4.4)	8,8 (SD = 2.5)
26	7,5 (SD = 2.3)	7,3 (SD = 4.0)	7,2 (SD = 2.2)
24	9,6 (SD = 3.1)	7,9 (SD = 5.1)	9,3 (SD = 3.0)
22	8,8 (SD = 3.1)	9,1 (SD = 6.0)	8,2 (SD = 2.5)
20	9,1 (SD = 2.7)	8,7 (SD = 7.0)	8,9 (SD = 2.6)
18	9,6 (SD = 3.3)	12,8 (SD = 11.3)	9,3 (SD = 3.2)
16	8,1 (SD = 2.1)	10,6 (SD = 8.3)	8,1 (SD = 2.1)

## 4 Diskusjon

Formålet med studien var å undersøke copepoditters salinitetstoleranse for 32 ppt og lavere, samt adferdsrespons i halokliner med brakkvannslag i en mørkeperiode og påfølgende lysperiode for copepoditter og nauplii av *C. elongatus*. Hovedfunnene indikerte at copepodittene forble mobile i saliniteter ned til 17 ppt, og at de viste en vertikal fordeling i halokliner med varierende salinitet. Naupliuslarvene viste høyere sensitivitet mot brakkvannslag, og unngikk saliniteter helt opp til 30 ppt. Ettersom det har blitt gjort få tidligere studier med *C. elongatus* og salinitetsrespons, og artene har mange biologiske likheter, er det naturlig å sammenligne resultatene med tidligere funn for *L. salmonis*.

### 4.1 Salinitetstoleranse hos copepoditter

Bioassay ble gjennomført på *C. elongatus* i copepodittstadiet. Resultatet viste en drastisk nedgang i mengde mobile copepoditter mellom salinitet 17–11 ppt (Figur 5). Ved 14 ppt var det stor variasjon i overlevelse, ved at noen grupper viste 100% andel mobile copepoditter, samtidig som at andre grupper viste 0%. Dette indikerer at variasjonen mellom salinitetstoleransen til copepoditter potensielt kan være stor i 14 ppt brakkvann. *Caligus elongatus* har et stort utvalg av potensielle verter, der de fleste er stenohaline og tilpasset fullt salint sjøvann (Treasurer et al., 2022). I tillegg er de svært mobile, og kan svømme mellom vertsfisk (Neilson et al., 1987; Pike, 1989). Dette begrenser tiden copepodittene må tilbringe i brakkvann for å lete etter mulige verter, samt hvor lenge copepoditten må være festet til en vert som beveger seg i potensielt ugunstige miljøforhold. Dette påvirker potensielt hvor godt tilpasset larvene er brakkvann. At *C. elongatus* har et stort vertsspekter, kan være med på å forklare copepodittenes følsomhet mot lav salinitet.

Det er naturlig å sammenligne salinitetstoleransen til *C. elongatus* med den hos *L. salmonis*. I 14 ppt var andel mobile larver svært varierende. Ved 11 ppt var det ingen mobile individer av *C. elongatus* (Figur 5). Dette tyder på at *C. elongatus* ikke overlever saliniteter lavere enn 11 ppt, og at overlevelsen allerede reduseres ved 14 ppt. Bricknell et al. (2006) fant at overlevelsen til copepoditter av *L. salmonis* ble kraftig redusert ved eksponering for 12 ppt. Bioassay gjennomført på *L. salmonis* har vist at larvene forble upåvirket helt ned til salinitet 9 ppt (Andrews & Horsberg, 2020). *Lepeophtheirus salmonis* har manglende evne til å drive osmoregulering og dermed regulere cellevolum og hemolymfe i ferskvann (Bricknell, 2006). Funnene til Andrews & Horsberg (2020) indikerer at *L. salmonis* har høyere salinitetstoleranse under 11 ppt sammenlignet med funnene gjort i dette forsøket for *C. elongatus*. Til tross for ulik salinitetstoleranse mellom *L. salmonis* og *C. elongatus*, er årsaken til dødelighet trolig den samme, nemlig manglende evne til å drive osmoregulering. *Caligus elongatus* er i tillegg mindre enn *L. salmonis* (Schram, 2004), som kan bidra til å gjøre *C. elongatus* mer følsom for miljøfaktorer som f.eks. salinitet. Schram et al. (1998) foreslo at adulte *C. elongatus* hadde lavere salinitetstoleranse enn *L. salmonis*, nettopp fordi de er mer mobile og kan hoppe av verten med gode muligheter for å finne en ny (Schram et al., 1998). Funnene gjort om copepoditters salinitetsrespons i denne studien indikerer at dette kan gjelde for copepoditter av *C. elongatus* også.

## 4.2 Adferdsmønstre i vertikale salinitetsgradienter

Resultatene viste at både nauplii og copepoditter ble påvirket av vertikale salinitetsgradienter, riktignok på ulike måter. Copepodittene responderte med tydelig vertikal fordeling som respons på salinitetsgradientene, og avstanden fra brakkvannslaget økte i takt med synkende salinitet. Nauplii viste større sensitivitet mot lav salinitet, og unngikk totalt å oppholde seg i brakkvann med salinitet som var 30 ppt eller lavere. Den gjennomsnittlige hastigheten til copepodittene var generelt høyere sammenlignet med naupliene.

### 4.2.1 Copepoditters adferdsrespons

Copepodittenes vertikale posisjon viste en fordeling der avstanden fra haloklinen økte med lavere salinitet i brakkvannslaget (Figur 6). Under mørkeperioden i den isohaline kontrollen (32 ppt), hadde copepodittene en adferd som skilte seg tydelig fra de resterende eksponeringene. Da svømte copepodittene opp mot vannoverflaten helt fra starten av mørkeperioden. I mørket hadde copepodittene en lavere vertikale posisjon ved 30 ppt sammenlignet med kontrollen (32 ppt), og dette var synlig både for gjennomsnittlig vertikale posisjon (Figur 6) og løpende gjennomsnitt for individer (Figur 7). Under mørkeperioden aggregerte copepodittene under haloklinen for alle salinitetene. Copepodittene hadde en svært lav vertikale posisjon i mørket ved 18 og 16 ppt, og ingen copepoditter ble funnet i brakkvannslaget (Figur 7). *Caligus elongatus* er, i motsetning til *L. salmonis*, en generalist som kan ha flere verter (Kabata, 1979; Treasurer et al., 2022). Av disse artene, viser ikke alle en tydelig aggregering i overflaten, som eksempelvis torsk og sei (Neat et al., 2006). Dersom *C. elongatus* reduserer behovet for å oppholde seg i brakkvann ved å ha et bredere utvalg av vertsfisk, kan dette bidra til å forklare hvorfor copepodittene unngår vann med redusert salinitet. Resultatet stemmer overens med tidligere observasjoner for *C. elongatus*, nemlig at fordelingen av *C. elongatus* er sterkt knyttet til salinitet (Heuch et al., 2002).

Lysperioden startet etter 20,6 sekunder, og da fortsatte copepodittene i kontrollen (32 ppt) å svømme aktivt i det øvre vannlaget. Dette tyder på at copepodittene vil søke mot vannoverflaten i en isohalin vannsøyle, nærmest uavhengig av lysstimulus. MacKinnon (1993) fant at copepoditter ble tiltrukket av lysstimuli dersom intensiteten var høy nok, noe som stemmer overens med funnene gjort i dette forsøket. I tillegg underbygger copepodittenes adferdsrespons i kontrollen metodens validitet, og demonstrerer at copepodittene viser positiv fototaksi dersom salinitetsresponsen ikke dominerer. Crosbie et al. (2019) har gjort lignende observasjoner for *L. salmonis* i isohaline kolonner, og en større del av *L. salmonis* copepodittene svømte i den øvre delen av vannsøylen da saliniteten var over 32 ppt (Crosbie et al., 2019). Resultatene fra dette forsøket indikerer at *C. elongatus* vil fordele seg i den øvre delen av vannsøylen dersom saliniteten er 32 ppt, og dette stemmer overens med Crosbie et al. (2019) sine funn for *L. salmonis*. Det indikerer også at *L. salmonis* og *C. elongatus* kan ha lignende adferdsrespons i vann med høy salinitet.

Da saliniteten i brakkvannslaget var 30–26 ppt, hadde copepodittene en tydelig lysrespons ved at de svømte gjennom haloklinen og opp i brakkvannslaget. Dette kan indikere at lysresponsen til larvene blir mer avgjørende for vertikal fordeling når saliniteten er relativt høy, sannsynligvis fordi de fysiologiske stressene forbundet med å oppholde seg i brakkvann blir redusert i forhold til vann med lavere salinitet. I halokliner

med 24 og 22 ppt ble en klar lysrespons observert, men gjennomsnittet av copepodittene unngikk fortsatt å passere haloklinen. Dette tyder på at selv om lys spiller en viktig rolle i deres vertikale fordeling, er salinitet en dominerende faktor som begrenser larvenes fordeling i vannsøylen. Copepodittene i brakkvann med de laveste salinitetene, 16 og 18 ppt, unngikk generelt brakkvannet. Her ble det også tydelig at lysstimulus utløste en umiddelbar respons hos enkeltindivider gjennom aktiv svømmeadferd mot lysstimulus, men at denne ble fulgt av aktiv svømming vekk fra brakkvannslaget, særlig synlig ved 18 ppt (Figur 7). Selv ved så lave saliniteter som 18 ppt, ble altså noen individer funnet over haloklinen. Dette viser at det var tydelige individuelle variasjoner i respons. Resultatene kan tyde på at copepodittenes vertikale posisjon *C. elongatus* skyldes en likevekt mellom tiltrekning mot overflatelys og unnvikelse av brakkvannslaget, og at denne sannsynligvis ligger et sted mellom 24 og 26 ppt. I denne likevekten responderte copepodittene på lyset med å svømme gjennom haloklinen, før de deretter responderte på salinitetsendringen ved å redusere høydeposisjonen sin. Dette ligner på likevektsresponsen som Crosbie et al. (2019) beskrev for *L. salmonis*. Både lys (Heuch et al., 1995b) og salinitet (Heuch et al., 2002, 1995a) påvirker fordelingen av *L. salmonis* copepoditter i vannsøylen. Resultatene fra denne studien indikerer at det kan være tilfellet for *C. elongatus* også. *Caligus elongatus* copepoditter har en adferd som er bundet til at de må oppdage og feste seg til en vert før energireservene tømmes (Piasecki & MacKinnon, 1995). I likhet med *L. salmonis*, vil *C. elongatus* reagere på lyset ved å svømme opp mot overflaten. Dette kan øke copepodittenes sannsynligheten for å finne en vert, ettersom både Atlantisk laks (*S. salar*) og ørret (*S. trutta*), tilbringer mye tid i overflatevann (Oppedal, 2011; Klemetsen et al., 2003, Rikardsen et al., 2007). Adferdsresponsen til *C. elongatus* kan tyde på at de generelt sett responderer på lysstimuli for å øke sannsynligheten for å finne en vert, samtidig som salinitetsresponsen begrenser deres fordeling i vannsøylen.

Gjennomsnittshastigheten i mørkeperioden og hele lysperioden var svært lik for alle saliniteter i brakkvannslaget, men den var høyere i første del av lysperioden. Dette viste at hastigheten til majoriteten av copepodittene var relativt lik over tid.

Gjennomsnittshastigheten til enkelte individer var derimot høy for enkelte perioder, og den høyeste registrerte hastigheten var 89,2 mm/sek. (Vedlegg C). Dette kan tyde på at majoriteten av copepodittene ikke viste kraftig lysrespons *eller* hadde spesielt høy hastighet, men at noen individer kunne oppnå svært høy hastighet både i mørkeperioden og i lysperioden. Gravli (1996) registrerte en makshastighet på 102,3 mm/sek hos *L. salmonis*. *Caligus elongatus* copepoditter er mindre i størrelse sammenlignet med *L. salmonis* (Schram, 2004), og resultatet stemmer derfor overens med hva som var forventet i forhold til tidligere funn for *L. salmonis*. Den økte gjennomsnittshastigheten i første del av lysperioden indikerer også at *C. elongatus* reagerer på lysstimulus som forventet, nemlig med å utøve positiv fototaksi.

Under mørkeperioden hadde copepodittene en lavere gjennomsnittshastighet da saliniteten i brakkvannslaget var under 20 ppt, sammenlignet med kontrollen (32 ppt). For saliniteter over 20 ppt var gjennomsnittshastigheten tilnærmet lik som for kontrollen. I lysperioden svømte copepodittene stort sett saktere da saliniteten var under 26 ppt, sammenlignet med kontrollen. Gjennomsnittshastigheten til copepodittene så altså ut til å være styrt av både lys og salinitet i en viss kombinert effekt. For hver eksponering var det et ulikt antall lus som befant seg i brakkvannslaget. For eksempel var det en betydelig høyere andel copepoditter svømmende i brakkvannslaget ved 30 ppt sammenlignet med 16 ppt, der ingen copepoditter oppholdt seg i brakkvannslaget over tid. På grunn av dette gir ikke resultatet et direkte bilde på gjennomsnittshastigheten for

copepoditter eksponert for ulike saliniteter. Det bidrar likevel til å gi et samlet bilde av copepodittenes adferd i vertikale salinitetsgradienter.

#### 4.2.2 Naupliuslarvers adferdsrespons

Nauplii viste en tydelig salinitetsrespons ved at de unngikk brakkvannslag med lavere salinitet enn 32 ppt (Figur 9). Effekten av ulik salinitet på fordelingen av nauplii var statistisk signifikant for både mørkeperioden og lysperioden, og prøvde naupliene generelt å unngå lave saliniteter. Naupliuslarvene viste heller ikke en vertikal fordeling lik den som ble observert for copepodittene. Det har blitt dokumentert at *L. salmonis* copepoditter viser større salinitetstoleranse enn nauplii (Gravli, 1996). Resultatene fra dette forsøket tyder på at dette trolig gjelder for *C. elongatus* også.

Den gjennomsnittlige vertikale posisjonen til naupliuslarvene var tydelig påvirket av salinitet (Figur 8), og larvene unngikk å oppholde seg i saliniteter under 30 ppt (Figur 9) gjennom hele mørkeperioden. I den isohaline kontrollen (32 ppt) var vertikalposisjonen til naupliene signifikant høyere sammenlignet med de resterende salinitetene. Dette kommer frem av både gjennomsnittlig vertikalposisjon (Figur 8), og individuelle spor av nauplier (Figur 9). I brakkvannslag under 30 ppt responderte alle individene med å slutte å svømme aktivt opp mot vannoverflaten, og heller synke passivt nedover i vannmassene. Dette var trolig en respons for å prøve og nå vann med høyere salinitet. Ettersom ferskvann har lavere tetthet enn saltvann øker larvene sannsynligheten for å møte på vann med høyere salinitet ved å passivt synke ned (Alexander, 1990), noe som også blir gjeldende i det naturlige miljøet. At naupliuslarvene stopper å svømme aktivt i det de møter på brakkvann med for lav salinitet, er dermed som forventet. Lik adferdsrespons for nauplii har blitt dokumentert hos *L. salmonis* (Crosbie et al., 2019). Crosbie et al. (2019) fant at lakselusnauplii aggregerte i halokliner helt opp til saliniteter på 32 ppt. I isohaline kolonner (34,7 ppt) derimot, var larvene jevnere spredt i vannsøylen, og flere individer svømte det øvre vannlaget (Crosbie et al., 2019). I de tidlige utviklingsstadiene viser *L. salmonis* og *C. elongatus* større fysiologisk likhet sammenlignet med voksne individer (Schram, 2004). Dette kan forklare den relativt like adferdsresponsen til naupliene. Nauplii er det minste utviklingsstadiet hos både *C. elongatus* og *L. salmonis*, og må utvikle seg videre til copepoditter før de kan finne en vert (Schram, 2004). *Caligus elongatus* nauplii posisjonerer seg i vannsøylen slik at de øker sannsynligheten for å finne en vert når de blir copepoditter (Hogans & Trudeau, 1989). Resultatet viser derimot at dette sannsynligvis ikke overstyrer salinitetsresponsen til naupliene. Naupliuslarver må også overleve på energireservene sine frem til de utvikler seg og blir copepoditter (Pike et al., 1993). Årsaken til at *C. elongatus* distribueres over 30 ppt kan være for å unngå å bruke energi på å måtte kompensere for økt osmoregulering.

Da lysperioden startet etter 20,6 sekunder, fortsatte naupliene i kontrollen å svømme i det øvre vannlaget. Lysstimulus så altså ikke ut til å være avgjørende for nauplienes vertikale posisjon, ettersom som de søkte mot vannoverflaten uavhengig av lysstimulus. For eksponeringene med 26–16 ppt brakkvann ble det observert høyere gjennomsnittlig vertikalposisjon i mørkeperioden sammenlignet med lysperioden. I lysperioden reduserte naupliene sin gjennomsnittlige vertikalposisjon for å unngå vann med lav salinitet, til tross for at de ble eksponert for lys. Det har blitt vist at *L. salmonis*-nauplii er mindre følsomme for lys, og viser mindre tydelig vertikal migrasjon sammenlignet med copepoditter (Flamarique et al., 2000; Heuch et al., 1995b). Resultatet viser at den reduserte lysresponsen for nauplii kan være gjeldende for *C. elongatus* også.

Hastigheten til naupliene (Tabell 6) var lavere sammenlignet med copepodittene (Tabell 5), og dette gjaldt for alle saliniteter, både i mørkeperioden og lysperioden. Dette kan skyldes at nauplii er mindre enn copepoditter (Schram, 2004) og ikke like effektive svømmere. Gravli (1996) gjorde samme funn for *L. salmonis*. Dette ble sett i sammenheng med at første antennepar mister sin opprinnelige posisjon, som igjen påvirker hastighet (Gravli, 1996). Ettersom antenneparene til *L. salmonis* og *C. elongatus* har lignende struktur og funksjon (Schram, 2004), kan dette være tilfellet for *C. elongatus* nauplii også, selv om dette ikke er undersøkt i denne studien. Gjennomsnittshastigheten til naupliene var høyest i kontrollen (32 ppt), og dette stemte godt overens med observasjonene av individuell spor, som viste høy grad av aktiv svømmeadferd for majoriteten av naupliene (Figur 9).

Observasjonene av copepoditter og nauplii kan generelt tyde på at både salinitet og lys er viktige miljøfaktorer som påvirker fordelingen av både nauplii og copepoditter i vannsøylen. Aggregering i halokliner dokumenter for mange arter av zooplankton (Harder, 1968), og resultatene er samlet sett som forventet. Lys er anerkjent som den miljømessige faktoren som styrer den vertikale bevegelse av zooplankton (Forward, 1976). Funnene stemmer også overens med lignende funn gjort for zooplankton, der larvestadier av frittlevende copepoder responderer på endring i salinitet ved synkeadferd, eller aktiv svømming for å unngå vann med lavere salinitet (Gravli, 1996; Lance, 1962; Grindley, 1964; Harder, 1968). Ettersom det ble observert adferdsrespons som følge av lysstimulus for begge larvestadier, kan dette vise at *C. elongatus* responderer slik det er forventet. Resultatene kan likevel tyde på at salinitet er den miljøfaktoren som dominerer når det kommer til distribusjon og fordeling av lus.

Akvariets dimensjoner begrenser forsøkets nærhet til naturlige forhold. Størrelsen på akvariet var tilpasset for bevegelsesdeteksjonen av 500-660 µm store larver i mørket, og det var generelt sett utfordrende å oppnå god oppløsning slik at det var mulig å se små larver. Et lite akvarium skiller seg fra naturlige miljø gjennom flere forhold, blant annet faktorer som bølger, strøm, lysforhold, størrelsesforhold, vær etc. Det var likevel mulig å etablere en salinitetsgradient som gav et godt innblikk i larvenes adferd i møte med vann med lav salinitet, samt utforme et oppsett der antall synlige lus ble vurdert som tilstrekkelig. 16 cm vannhøyde tilsvarte over 300 kroppslengder, slik at det er grunn til å tro at larvene hadde tilstrekkelig plass til å utøve naturlig adferd. Det er derfor grunn til å tro at det eksperimentelle oppsettet bidro til å gi et godt innblikk i hvordan luselarvene kan oppføre seg ved naturlige forhold.

#### 4.2.3 Videre forskning

I videre forskning hadde det vært nyttig å utvide forsøket til å omfatte et bredere spekter av saliniteter, både når det kommer til toleranse og adferd. Dette kunne f.eks. blitt gjort ved å lage både halokliner og isohaline kolonner for høyere saliniteter (34–30 ppt), og sammenlignet adferdsrespons for både nauplii og copepoditter. Siden det ble observert aggregering i haloklinen for *L. salmonis* ved 32 ppt (Crosbie et al., 2019), hadde det vært mulig og gjort lignende tilnærming for *C. elongatus*. Både *C. elongatus* og *L. salmonis* viste en adferd som var preget av et likevektsforhold mellom salinitetsrespons og lysrespons. Det hadde vært interessant å undersøke akkurat hvor denne likevekten befinner seg for begge artene. Dette kan bli gjort ved å studere adferdsresponsen i vann med salinitet mellom 26–24 ppt, og sammenligne resultatene for artene. Slike funn ville

også vært relevant i forhold til hva man kan forvente å finne av brakkvannsgradienter på oppdrettslokaliteter.

En ytterligere utvidelse av forsøket kunne inkludert et større akvarium, uten at dette gikk på bekostning av oppløsningen på opptakene. På den måten ville det blitt enklere å simulere naturlig forhold i sjøen, som muligens hadde gitt resultatet større anvendelse i modellering etc. Det hadde også vært nyttig å dokumentere salinitetstoleransen til nauplier og sammenlignet resultatene med både de for copepoditter, men også de for *L. salmonis*. Ulik grad av eksponering for lav salinitet (eksponeringstid og konsentrasjon) hadde også kunne gitt informasjon om hvorvidt larvestadiene klarte å restituere fra lave saliniteter.

Scriptene som ble brukt til denne databehandling viste seg til slutt å være *gode nok* til å detektere små bevegelser, slik at et tilstrekkelig utvalg bevegelsesdeteksjoner ble tatt med videre i databehandlingen. Dette førte likevel til at en del støy og ubrukelige spor måtte fjernes fra det endelige datasettet manuelt. En forbedring av databehandlingen ville definitivt vært å implementere maskinlæring for å detektere forskjellen på lus og støy, slik at helt faste kriterier hadde blitt satt for hvert datasett. Ytterligere forskning på *C. elongatus* er viktig, da det kan gi oss større innsikt i hvordan ulike miljøfaktorer påvirker artens distribusjon. Dette kan bidra med kunnskap til bruk i kartlegging og modellering av smittepress, som er nyttig for norsk oppdrettsnæring.

## 5 Konklusjon

Formålet med studien var å undersøke salinitetstoleransen til copepoditter, samt adferdsresponsen hos både nauplii og copepoditter av *C. elongatus* i møte med brakkvannslag med lav salinitet i mørket og lyset. Andelen mobile copepoditter i bioassay gikk kraftig ned ved 14–11 ppt, noe som antyder at *C. elongatus* har noe lavere toleranse til lavere saliniteter sammenlignet med tidligere funn av *L. salmonis*. Adferden til nauplii og copepoditter i salinitetsgradienter med og uten lysstimulus viste en signifikant effekt av salinitet på larvenes gjennomsnittlige vertikalposisjon. Naupliene unngikk brakkvannslag under 30 ppt i stor grad, mens copepodittene hadde en mer gradvis unnvikelse av brakkvannslaget med redusert salinitet. Copepodittene responderte på lysstimulus i større grad enn naupliene. Den vertikale fordelingen av *C. elongatus* larver skyldes sannsynligvis en likevekt mellom tiltrekning mot overflatelyst, og unnvikelse av brakkvannslaget. Resultatet tyder på at denne likevekten ligger et sted mellom 24–26 ppt for copepoditter, og 32–30 ppt for nauplii. Funnene indikerer at salinitet sannsynligvis er en mer dominerende miljøfaktor for fordelingen av nauplii, sammenlignet med copepoditter. Gjennomsnittshastigheten til copepodittene var generelt høyere sammenlignet med naupliene, noe som stemmer overens med det som var forventet. Hastigheten for begge stadier var også lavere sammenlignet med tidligere funn gjort for *L. salmonis*. Resultatene understreker viktigheten av salinitet som en nøkkelfaktor i vertikal fordeling og overlevelse for larvestadier av *C. elongatus*, og bidrar med økt kunnskap om hvordan ulike miljøfaktorer spiller inn ved fordelingen av luselarver.



# Referanseliste

- Aarseth, K. A. & Schram, T. A. (1999). Wavelength-specific behaviour in *Lepeophtheirus salmonis* and *Calanus finmarchicus* to ultraviolet and visible light in laboratory experiments (Crustacea: Copepoda). *Marine Ecology Progress Series*, 189, 211-217.
- Alexander, R. M. (1990). Size, speed, and buoyancy adaptations in aquatic animals. *American Zoologist*, 30(1), 189-196. <https://doi.org/10.1093/icb/30.1.189>
- á Norði, G., Simonsen, K., Danielsen, E., Eliassen, K., Mols-Mortensen, A., Christiansen, D. H., Steigrund, P., Galbraith, M., & Patursson, Ø. (2019). Abundance and distribution of planktonic *Lepeophtheirus salmonis* and *Caligus elongatus* in a fish farming region in the Faroe Islands. *Aquaculture Environment Interactions*, 11, 15-27. <https://doi.org/10.3354/aei00134>
- Andrews, M. & Horsberg T. E. (2020). Sensitivity towards low salinity determined by bioassay in the salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae). *Aquaculture*, 514. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734511>.
- Boxshall, G. A. & Özak, A. A. (2022). Introduction to sea lice morphology and biology. I J. Bron, J. Treasurer & I. Bricknell (Red.) *Sea Lice Biology and Control* (s. 13-43) Great Easton: 5m Publishing Ltd
- Bricknell, I., Dalesmann, S. J., O'Shea, B., Pert, C. C. & Luntz, A. J. M. (2006). Effect of environmental salinity on sea lice *Lepeophtheirus salmonis* settlement success. *Diseases of Aquatic Organisms*, 71, 201-212.
- Costello, M. J. (2006). Ecology of sea lice parasitic on farmed and wild fish. *Trends in Parasitology*, 22(10), 475-483. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.08.006>
- Crosbie, T., Wright, D. W., Oppedal, F., Johnsen, I. A., Samsing, F., & Dempster, T. (2019). Effects of step salinity gradients on salmon lice larvae behaviour and dispersal. *Aquaculture Environment Interactions*, 11, 181-190. <https://doi.org/10.3354/aei00303>
- Fields, D., Morefield, R., & Bricknell, I. (2022). Sea lice physiology: osmoregulation. I J. Bron, J. Treasurer & I. Bricknell (Red.) *Sea Lice Biology and Control* (s. 156-157) Great Easton: 5m Publishing Ltd
- Flamarique I. N, Browman H. I., Bélanger M., Boxaspen, K. (2000). Ontogenetic changes in visual sensitivity of the parasitic salmon louse *Lepeophtheirus salmonis*. *J Exp Biol*, 203(11), 1649–1657. <https://doi.org/10.1242/jeb.203.11.1659>
- Forward, R. B. (1976). Light and Diurnal Vertical Migration: Photobehavior and Photophysiology of Plankton. I K. C. Smith (Red.) *Photochemical and Photobiological Reviews*. Springer, Boston, MA. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-2574-1\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-2574-1_4)
- FN (2023a). *Utrydde sult*. FN.no. <https://fn.no/om-fn/fns-baerekraftsmaal/utrydde-sult>
- FN (2023b). *Livet i havet*. FN.no. <https://fn.no/om-fn/fns-baerekraftsmaal/livet-i-havet>

- Furberg, M. H. (2022). *Sammenlikning av mekanisk og termisk avlusing: Klekkesuksess og larveutvikling fra eggstrenger med vurdering av smittepotensial hos lakselus (Lepeophtheirus salmonis)* [Masteroppgave] Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet.
- Gravil, H. R. (1996). *Studies on the biology and ecology of the free swimming larval stages of Lepeophtheirus salmonis (Kroyer, 1838) and Caligus elongatus (Nordmann, 1832) (Copepoda: Caligidae)*. [Masteroppgave]. Stirling University.
- Grindley, J. R. (1964). Effect of lowered salinity water on the vertical migration of estuarine plankton. *Nature*, 203, 781-782.
- Hahnenkamp, L. & Fyhn, H. J. (1985). The osmotic response of salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda : Caligidae), during the transition from sea water to fresh water. *Journal of Comparative Physiology*, 155, 357-365
- Hansen, S. S. (2022). *Egg string hatching success, development to copepodids and tolerance to low salinities in salmon lice (Lepeophtheirus salmonis) as a consequence of freshwater delousing*. [Masteroppgave]. Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet.
- Harder, W. (1968). Reactions of plankton organisms to water stratification. *Limnol Oceanogr*, 13(1), 156–169. <https://doi.org/10.4319/lo.1968.13.1.0156>
- Heuch, A. P. (1995a). Experimental Evidence for Aggregation of Salmon Louse Copepodids (*Lepeophtheirus Salmonis*) in Step Salinity Gradients. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 75(4), 927–939.
- Heuch, P.A., Parsons, A., Boxaspen, K. (1995b). Diel vertikal migration: A possible host-finding mechanism in salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) copepodids? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 52(4): 681-689. <https://doi.org/10.1139/f95-069>.
- Heuch, P.A., Knutsen, J. A., Knutsen, H., & Schram, T. A. (2002). Salinity and temperature effects on sea lice over-wintering on sea trout (*Salmo trutta*) in coastal areas of the Skagerrak. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 82(5), 887–892.
- Hemmingsen, W., MacKenzie, K., Sagerup, K., Remen, M., Bloch-Hansen, K., & Imsland, A.K D. (2020). *Caligus elongatus* and other sea lice of the genus Caligus as parasites of farmed salmonids: A review. *Aquaculture*, 522. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735160>.
- Hogans, W. E., & Trudeau, D. J. (1989). Preliminary studies on the biology of sea lice, *Caligus elongatus*, *Caligus curtus* and *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligoida) parasitic on cage-cultured salmonids in the lower Bay of Fundy. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1715, iv+14pp.
- Imsland, A. K. D., Sagerud, K., Remen, M., Bloch-Hansen, K., Hemmingsen, W., & Myklebust, E. A. (2019). *Kunnskaps- og erfaringskartlegging om Caligus elongatus (skottelus)* (KEKS) (APN 60795) Akvaplan Niva.
- Kabata, Z. (1979). *Parasitic copepoda of British fishes*. London: The Ray Society.
- Klements, A., Amundsen, P. A., Dempson, J. B., Jonsson, B., Jonsson, N., O'Connell, M. F. & Mortensen, E. (2003). Atlantic salmon *Salmo salar* L., brown trout *Salmo trutta* L. and Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.): a review of aspects of their life histories. *Ecology of Freshwater Fish*, 12, 1-59.

Kunnskapsdepartementet (2022). Kunnskap og FNs bærekraftsmål. Regjeringen.no. <https://www.regjeringen.no/no/tema/utdanning/innsikt/internasjonalt-kunnskapssamarbeid/utdanning-og-nye-barekraftsmal/id2398973/>

Lance, J. (1962). The effects of water reduced salinity on the vertical migration of zooplankton. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 42(2), 131-154. doi:10.1017/S0025315400001272

Landsberg, J. H., Vermeer, G. K., Richards, S. A., & Perry, N. (1991). Control of the Parasitic Copepod *Caligus elongatus* on Pond-Reared Red Drum. *Journal of Aquatic Animal Health*, 3(3), 206–209. [https://doi.org/10.1577/1548-8667\(1991\)003<0206:COTPCC>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8667(1991)003<0206:COTPCC>2.3.CO;2)

MacKinnon B. M. (1993). Response of the copepodid larvae of *Caigus elongatus* to light, and the ultrastructure of the eyes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50(4), 793-793. <https://doi.org/10.1139/f93-092>

Myhre, G. (2021). *Temperature-dependent development of emryonic, planctonic, and parasitic stages of the sea lice Caligus elongatus*. [Masteroppgave]. Universitetet i Bergen.

Neat, F. C., Wright, P. J., Zuur, A. F., Gibb, I., Gibb, F., Tulett, D. (2006). Residency and depth movements of a coastal group of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Marine Biology* 148, 643–654. <https://doi.org/10.1007/s00227-005-0110-6>

Neilson, J. D., Perry, R. I., Scott, J. S., & Valerio, P. (1987). Interactions of caligid ectoparasites and juvenile gadids on Georges Bank. *Marine Ecology. Progress Series (Halstenbek)*, 39(3), 221–232.

Nilsen, M. B (in prep) *Behavioural Responses of Nauplii and Copepodites of Caligus elongatus (Crustacea: Copepoda: Caligidae) to Light Stimuli og Different Wavebands, Intensities, and Pulsations* [Masteroppgave] Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet.

Norges Sjømatråd (2024). *Nøkkeltall*. Seafood.no. <https://seafood.no/markedsinnsikt/nokkeltall/>

NOU 2023:23 (2023). *Helhetlig forvaltning av akvakultur for bærekraftig verdiskaping*. Nærings- og fiskeridepartementet.

Oppedal, F., Dempster, T., Stien, L. H. (2011). Environmental drivers of Atlantic salmon behaviour in sea-cages: a review. *Aquaculture*, 311(1-4), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.11.020>

Piasecki, W. (1996). The developmental stages of *Caligus elongatus* von Nordmann, 1832 (Copepoda: Caligidae). *Canadian Journal of Zoology*, 74(8), 1459–1478. <https://doi.org/10.1139/z96-161>

Piasecki, W., & MacKinnon, B. M. (1995). Life cycle of a sea louse, *Caligus elongatus* von Nordmann, 1832 (Copepoda, Siphonostomatoida, Caligidae). *Canadian Journal of Zoology*, 73(1), 74-82. <https://doi.org/10.1139/z95-009>

Pike, A. W. (1989). Sea lice: Major pathogens of farmed atlantic salmon. *Parasitology Today*, 5(9), 291–297. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(89\)90020-3](https://doi.org/10.1016/0169-4758(89)90020-3)

- Pike, A. W., Mordue, A. J., & Ritchie, G. (1993). The development *Caligus elongatus* Nordmann from hatching to copepodid in relation to temperature. I G. A. Boxshall & D. Defaye (Red.), *Pathogens of wild and farmed fish: sea lice*. 51-60. CRC Press.
- Rikardsen, A. H., Diserud, O. H., Elliott, J. M., Dempson, J.B., Sturlaugsson, J. & Jensen, A. J. (2007). The marine temperature and depth preferences of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) and sea trout (*Salmo trutta*), as recorded by data storage tags. *Fish Oceanogr* 16(5), 436–447. 10.1111/j.1365-2419.2007.00445.x
- Schram, T. A., Knutsen, J. A., Heuch, P. A., & Mo, T. A. (1998). Seasonal occurrence of *Lepeophtheirus salmonis* and *Caligus elongatus* (Copepoda: Caligidae) on sea trout (*Salmo trutta*), off southern Norway. *ICES Journal of Marine Science*, 55(2), 163-175. <https://doi.org/10.1006/jmsc.1997.0357>
- Schram, T. A. (2004). Practical identification of pelagic sea lice larvae. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 84(1), 103–110. doi:10.1017/S0025315404008963h
- Sommerset, I., Wiik-Nielsen, J., Oliveira, V. H. S., Moldal, T., Bornø, G., Haukaas, A. & Brun, E. (2023). *Fiskehelse rapporten 2022* (Veterinærinstituttets rapportserie nr. 5a/2023). Veterinærinstituttet.
- Sommerset, I., Wiik-Nielsen, J., Oliveira, V. H. S., Moldal, T., Bornø, G., Haukaas, A. & Brun, E. (2024). *Fiskehelse rapporten 2023* (Veterinærinstituttets rapportserie nr. 8a/2024). Veterinærinstituttet.
- Utdanningsdirektoratet (2020). Læreplan i biologi. Udir.no. <https://www.udir.no/lk20/bio01-02>
- Sælen, O. H. (1950). *The hydrography of some fjords in Northern Norway: Balsfjord, Ulfsfjord, Grøtsund, Vengsøyfjord and Malangen*. Tromsø museum.
- Treasurer, J., Bricknell, I., Bron, J. (2022) Introduction: a developing industry and the treat of sea lice. I J. Bron, J. Treasurer, I. & Bricknell (Red.) *Sea Lice Biology and Control* (s. 3-10) 5m Publishing.
- Wootton, R., Smith, J., & Needham, E. (1982). Aspects of the biology of the parasitic copepods *Lepeophtheirus salmonis* and *Caligus elongatus* on farmed salmonids, and their treatment. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. Section B. Biological Sciences*, 81(3), 185-197. doi:10.1017/S0269727000003389

# Vedlegg

**Vedlegg A:** Lyskontroll i Arduino Uno

**Vedlegg B:** Statistisk analyse

**Vedlegg C:** Hastighet, copepoditt

**Vedlegg D:** Hastighet, nauplii

## Vedlegg A: Lyskontroll i Arduino Uno

Kode utviklet av Stephen Grant og modifisert av Maja Hatlebakk.

```
#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
matrix.setBrightness(1); // bruk bare denne ved konstant lys. for
pulsering, deaktivert denne med "/" og bruk for-loopen nedenfor.
  // NB: Deaktiver linje 42-46 og linje 51-59 når du bare skal ha
konstant lys
}
void loop() {
  matrix.fillRect(0,6,7,2,colors[3]); //define top left point x,y
coordinates, rectangle width, and rectangle height
  matrix.setBrightness(10);
  matrix.show(); //Displays the preceding
commands, can be used more than once in a loop to cycle through a number
of commands
  delay(x); // light on for x milliseconds
  //Reset brightness to minimum
  matrix.setBrightness(10);
  matrix.show();
  delay(x); // light off for x milliseconds
}
```

## Vedlegg B: Statistisk analyse

### Bioassay med copepoditter

Tabell B1: One way ANOVA resultat fra bioassay med copepoditter. Effekten av salinitet på andelen mobile copepoditter var signifikant ( $p < 0.05$ ).

Variabel	df	Sum Sq	Mean Sq	F-verdi	p-verdi
Salinitet	1	3162	3162	137.7	<0.001

Tabell B2: Post hoc sammenligning med Tukey HSD test indikerte at prosent mobile copepoditter for salinitet 14–2 ppt ( $M = 85-0$ ,  $SD = 16-0$ ) var signifikant forskjellig fra kontrollgruppen (32 ppt). For salinitet 27–17 ppt ( $M = 100-98$ ,  $SD = 0-4$ ) var det ingen signifikant effekt av salinitet på prosentandel mobile copepoditter sammenlignet med kontrollgruppen (32 ppt).

Salinitet (ppt)	Gj.snitt (%)	SD	Forskjell (diff.)	95% KI Nedre (lwr)	95% KI Øvre (upr)	p-verdi (padj)
27	100	0	-1.421085e-14	-36.29	36.29	1.00
23	100	0	-4.440000e+00	-40.73	31.85	0.999
20	96	10	-2.000000e+00	-38.29	34.29	1.00
17	98	4	-1.505400e+01	-51.35	21.24	0.921
14	85	16	-5.400000e+01	-90.29	-17.70	<0.001
11	46	51	-1.000000e+02	-136.29	-63.70	0
8	0	0	-1.000000e+02	-136.29	-63.70	0
5	0	0	-1.000000e+02	-136.29	-63.70	0
2	0	0	-1.000000e+02	-136.29	-63.70	0

### Copepoditters gjennomsnittlige posisjon i vertikalretning

Tabell B3: Effekten av salinitet på copepodittenenes gjennomsnittlige vertikalposisjon var statistisk signifikant for både mørkeperioden og lysperioden ( $p < 0.05$ , one way ANOVA).

	Variabel	Df	Sum Sq	Mean Sq	F-verdi	p-verdi
<b>Mørkeperioden</b>	Salinitet	1	7538751	7538751	38.76	<0.001
<b>Lysperioden</b>	Salinitet	1	9764389	9764389	55.61	<0.001

Tabell B4: Post hoc sammenligning med Tukey HSD test indikerte at alle salinitetene (30–16 ppt) utenom 28 ppt hadde en signifikant effekt på copepodittenes gjennomsnittlige vertikalposisjon gjennom den totale lysperioden ( $p < 0.05$ ).

Salinitet (ppt)	Gj.snitt	SD	Forskjell (diff.)	95% KI Nedre (lwr)	95% KI Øvre (upr)	p-verdi (padj)
30	849,4	600,68	618.17	214.606	1021.73	<0.001
28	1105,7	610,71	323.25	-113.03	759.54	0.332
26	757,3	553,51	671.73	254.077	1089.39	<0.001
24	775,1	516,68	653.85	254.25	1053.45	<0.001
22	734,9	463,46	752.78	360.26	1145.302	<0.001
20	670,3	445,25	775.53	394.51	1156.54	0
18	661,5	401,77	850.16	476.048	1224.27	0
16	466,6	333,03	962.39	549.84	1374.93	<0.001

Tabell B5: Post hoc sammenligning med Tukey HSD test indikerte at alle salinitetene (30–16 ppt) hadde en signifikant effekt på copepodittenes gjennomsnittlige vertikalposisjon gjennom mørkeperioden ( $p < 0.05$ ). Gjennomsnitt og standardavvik vist for alle individer.

Salinitet (ppt)	Gj.snitt	SD	Forskjell (diff.)	95% KI Nedre (lwr)	95% KI Øvre (upr)	p-verdi (padj)
30	607,9	532,23	732.34	314.33	1150.35	<0.001
28	812,6	505,88	527.82	75.92	979.73	<0.001
26	559,4	428,97	780.86	348.25	1213.46	<0.001
24	683,3	523,27	686.73	272.83	1100.63	<0.001
22	577,9	413,89	785.58	379.02	1192.15	0
20	517,3	388,38	834.94	440.28	1229.59	0
18	497,1	318,45	843.23	455.72	1230.73	0
16	341,4	313,18	998.88	571.57	1426.19	0



## Gjennomsnittshastighet til copepoditter

Tabell B6: One way ANOVA viste at salinitet hadde en signifikant effekt på copepodittenes gjennomsnittshastighet, både for mørkeperioden og lysperioden ( $p < 0.05$ ).

	Variabel	Df	Sum Sq	Mean Sq	F-verdi	p-verdi
<b>Lysperioden</b>	Salinitet	8	2037	254.61	4.888	<0.001
<b>Mørkeperioden</b>	Salinitet	8	2945	368.1	6.042	<0.001

Tabell B7: Tukeys test viste at effekten av salinitet på gjennomsnittshastigheten til copepoditter i mørkeperioden (M) var signifikant ( $p < 0.05$ ) for saliniteter 20–16 ppt, men ikke for salinitet 30–22 ppt, sammenlignet med kontrollen (32 ppt). For lysperioden (L) var effekten av salinitet signifikant for salinitet 26–16 ( $p < 0.05$ ), men ikke for salinitet 30 og 28 ppt ( $p > 0.05$ ), sammenlignet med kontrollen. Gjennomsnitt og standardavvik (SD) ble beregnet for alle individer (Tabell 5).

Salinitet (ppt)	Forskjell (diff.)	95% KI Nedre (lwr)		95% KI Øvre (upr)		p-verdi (p adj)		
	L	M	L	M	L	M	L	M
30	4.66	4.59	-2.53	-3.18	11.85	12.37	0.522	0.647
28	2.42	-2.27	-5.35	-10.68	10.203	6.14	0.987	0.995
26	7.99	7.85	0.54	-0.19	15.43	15.908	0.0251	0.062
24	8.047	7.24	0.92	-0.46	15.17	14.94	0.0142	0.083
22	7.035	7.1001	-0.023	-0.53	14.095	14.73	0.0515	0.090
20	9.0606	8.99	2.31	1.69	15.81	16.29	0.00126	0.004
18	9.485	10.36	3.81	3.14	17.15	17.57	<0.001	<0.001
16	9.65	9.27	2.304	1.316	17.015	17.22	<0.001	0.009

Tabell B8: Det var ingen signifikant forskjell på gjennomsnittshastigheten til copepodittene i mørkeperioden og den totale lysperioden (paired t-test,  $p > 0,05$ ). I mørkeperioden (20,8 sek.) og hele lysperioden (81,6 sek.) var altså hastigheten tilnærmet lik for individene i alle saliniteter.

T-verdi	p-verdi
1.28737	0.233

## Naupliers gjennomsnittlige posisjon i vertikalretning

Tabell B9: Effekten av salinitet på nauplienes gjennomsnittlige vertikalposisjon var statistisk signifikant for både lysperioden og mørkeperioden (one way ANOVA,  $p < 0.05$ ).

	Variabel	Df	Sum Sq	Mean Sq	F-verdi	p-verdi
<b>Mørkeperioden</b>	Salinitet	1	135957	135957	0.849	<0.001
<b>Lysperioden</b>	Salinitet	1	558171	558171	5.069	0.0252

Tabell B10: Post hoc sammenligning med Tukey HSD test indikerte at salinitetene 30–24 og 18–16 ppt hadde en signifikant effekt på nauplienes gjennomsnittlige vertikalposisjon gjennom mørkeperioden ( $p < 0.05$ ).

Salinitet (ppt)	Gj.snitt	SD	Forskjell (diff.)	95% KI Nedre (lwr)	95% KI Øvre (upr)	p-verdi (padj)
30	495	354.22	626.99	260.10	993.88	<0.001
28	808.6	321.45	470.68	68.25	873.11	0.00921
26	790	381.14	438.57	68.01	809.14	0.00791
24	619.1	351.59	535.96	172.36	899.55	<0.001
22	711.8	325.75	344.30	35.108	723.71	0.109
20	810.4	368.67	336.43	-32.24	705.107	0.104
18	333.1	406.87	607.27	238.603	975.95	<0.001
16	650.2	310.79	457.93	91.046	824.82	0.003803

Tabell B11: Post hoc sammenligning med Tukey HSD test indikerte at alle salinitetene (30–16 ppt) hadde en signifikant effekt på nauplienes gjennomsnittlige vertikalposisjon gjennom lysperioden ( $p < 0.05$ ).

Salinitet (ppt)	Gj.snitt	SD	Forskjell (diff.)	95% KI Nedre (lwr)	95% KI Øvre (upr)	p-verdi (padj)
30	413.6	338.95	573.27	270.05	876.4	<0.001
28	707.9	388.65	413.46	80.88	746.05	0.004029
26	608.1	345.72	497.89	191.63	804.14	<0.001
24	552.4	308.8	514.03	213.54	814.53	<0.001
22	586.2	322.77	370.70	57.13	684.26	0.008029
20	652.4	372.39	408.01	103.31	712.70	0.00126
18	338	353.76	578.51	273.81	883.20	<0.001
16	484.2	298.43	514.81	211.60	818.03	<0.001

### Gjennomsnittshastighet til nauplier

Tabell B12: Det var en signifikant forskjell på gjennomsnittshastigheten til naupliene i mørkeperioden og den totale lysperioden (paired t-test,  $p > 0,05$ ). I mørkeperioden (20,8 sek.) og hele lysperioden (81,6 sek.) var altså hastigheten tilnærmet lik for individene i alle saliniteter.

T-verdi	p-verdi
5.64019	0.00048

Tabell B13: One way ANOVA viste at salinitet hadde en signifikant effekt på nauplienes gjennomsnittshastighet, både for mørkeperioden og lysperioden ( $p < 0.05$ ).

	Variabel	Df	Sum Sq	Mean Sq	F-verdi	p-verdi
<b>Lysperioden</b>	Salinitet	8	550.3	68.79	6.82	<0.001
<b>Mørkeperioden</b>	Salinitet	8	563.4	70.42	6.498	<0.001

Tabell B14: Tukeys test viste at effekten av salinitet på gjennomsnittshastigheten til nauplier i mørkeperioden (M) og lysperioden (L) var signifikant ( $p < 0.05$ ) for alle saliniteter (30–16) sammenlignet med kontrollen. Gjennomsnitt og standardavvik ble beregnet for alle individer (Tabell 6).

Salinitet (ppt)	Forskjell (diff.)		95% KI Nedre (lwr)		95% KI Øvre (upr)		p-verdi (p <sub>adj</sub> )	
	L	M	L	M	L	M	L	M
30	5.46	5.45	2.37	2.24	8.56	8.66	<0.001	<0.001
28	5.43	5.35	2.034	1.83	8.82	8.87	<0.001	<0.001
26	6.96	6.99	3.82	3.75	10.11	10.23	<0.001	<0.001
24	4.91	4.89	1.82	1.68	8.014	8.106	<0.001	<0.001
22	5.97	5.69	2.73	2.35	9.22	9.033	<0.001	<0.001
20	5.305	5.41	2.17	2.17	8.43	8.65	<0.001	<0.001
18	4.89	4.92	1.74	1.66	8.034	8.18	<0.001	<0.001
16	6.13	6.37	3.039	3.16	9.23	9.58	<0.001	<0.001

### Vedlegg C: Hastighet, copepoditt

Tabell C1: Gjennomsnittlig hastighet for copepodittene i vertikale salinitetsgradienter. Salinitet viser til saliniteten i brakkvannslaget på salinitetsgradienten. Periode (1-3) er de ulike lyseksponeringene, der periode 1 tilsvarer mørkeperioden, periode 3 tilsvarer hele den totale lysperioden, og periode 2 tilsvarer den første delen av lysperioden for alle saliniteter. ID er objekt-ID til alle sporede copepoditter.

	Hastighet (mm/sek)																																			
	32 ppt			30 ppt			28 ppt			26 ppt			24 ppt			22 ppt			20 ppt			18 ppt			16 ppt											
	ID	Periode			ID	Periode			ID	Periode			ID	Periode			ID	Periode			ID	Periode			ID	Periode										
	1	3	2		1	3	2		1	3	2		1	3	2		1	3	2		1	3	2		1	3	2									
<b>Rep 1</b>	ID24	14,3	14,4	7,28	ID17	13	12,1	5,09	ID26	47,3	30,4	9,05	ID7	13,6	13,7	32,2	ID16	5,93	5,95	8,06	ID18	13	13	25,29	ID1	16	16,1	40,31	ID30	9,56	9,56	4,12	ID17	13,3	13,3	5,65
	ID86	14,5	14,6	9,05	ID18	27	26,9	26,24	ID12	49,7	33,8	22,84	ID30	11,8	11,5	10	ID31	11,4	11,5	30,41	ID4	14	13	5,38	ID22	13,8	13,9	21,84	ID30	12,9	12,8	7,28	ID16	19,1	19,2	3
	ID5	23,1	23,3	57,87	ID396	21,4	21,6		ID24	42,3	26,3	27,73	ID3	12,8	12,8	11,4	ID90	26,1	19,1	15	ID18	15,6	14	53,16	ID14	28,1	28,3	33,24	ID14	19,9	20	40,36	ID2	17,3	17,3	10
	ID87	28,8	28,9	12,52	ID40	8,74	8,75	6,08	ID120	23,1	23,3		ID22	32,1	32,3	14,03	ID1	21,4	21,3	15,29	ID29	8,43	15,7	5	ID28	10,5	10,4	15,81	ID29	13	13,1	4,47	ID14	16	15,9	66
	ID425	36,1	36,4		ID50	6,39	6,41	3,6	ID5	11,3	5,9	4,47	ID12	10,9	10,7	41,03	ID183	14,6	14,7		ID56	10,6	8,48	5	ID19	16,8	16,4	5	ID76	12,6	12,5	28,31				
	ID35	21	21,1	4,123	ID199	8,54	8,56	6,08	ID214	39,4	39,9		ID42	12,7	11,2	89,2	ID5	12,2	11,6	12,16	ID84	20,9	10,6	6,7	ID0	21,2	21,4	6	ID23	19,9	19,5	4,47				
	ID89	22,9	22,6	7													ID134	14,5	14,7		ID7	14,3	20,9	79,47	ID17	19,6	19,7	10	ID27	7,18	7,22	14				
																	ID13	29,6	29,8	2	ID104	11,9	14,1	5					ID19	13,3	13,4	54,56				
																	ID19	24,4	24,2	16,27	ID243	9,86	11,6	13,45					ID33	14,7	14,8	4				
																	ID14	13,6	13,6	9,05									ID40	16,7	15,8	5				
																	ID25	10,7	10,6	8,54									ID75	10,3	9,95	6,08				
																	ID501	17,4	17,6										ID242	7,2	7,24	3,6				
<b>Rep 2</b>	ID87	35	34,9	10	ID127	14,8	14,7	5	ID100	17,2	17,2	33,3	ID35	17,6	17,6	5	ID32	11,7	11,7	10,04	ID10	15,7	15,1	38,32	ID46	11,3	11,2	6,4	ID25	26,9	27	49,65	ID38	7,09	7,05	9,21
	ID105	27,8	28	6,08	ID49	21,4	21,5	5,09	ID0	11,4	11,4	6	ID49	18,9	18,9	15,52	ID35	12,6	12,6	9	ID10	24,4	24,4	19,41	ID83	14,1	14	25,45	ID23	25,5	25,5	31,78	ID20	17,8	17,9	18,24
	ID40	36,6	36,8	23,7	ID133	34,5	34,7	6,32	ID28	19,4	19	9	ID89	13,1	13,1	14	ID84	8,49	8,52	5	ID125	13,3	13	5,09	ID80	6,22	6,18	6	ID115	3,16	3,14	8,06	ID110	7,79	7,78	8,06
	ID39	24,3	24,4	12,52	ID135	33	33,2	4,12	ID19	19,7	19,5	26,47	ID10	22,2	22,3	7,07	ID0	31,1	20,8	53,31	ID71	40,1	40,4	17,02	ID3	21,2	21,4	19,79	ID3	19,5	19,6	12,08	ID110	20,2	20,4	13,89
	ID112	28,9	29,1	7,07	ID13	41,1	41,4	35,84	ID226	32,3	21,1	7,28	ID2	3,43	3,43	4	ID10	17,3	17,4	5,65	ID3	36,2	36,4	14,03	ID46	20,6	20,7	28,07	ID32	14,7	14,4	67,47	ID33	12,1	12,1	49,25
	ID102	22,4	22	33,24	ID7	18,2	18,3	9	ID69	10,2	21	9,05	ID294	15,9	16	8	ID40	9,69	9,68	5,09	ID44	23,4	23,6	4,47	ID68	4,22	4,14	5,09	ID17	24,3	24	40,31	ID43	10,6	10,6	4
	ID108	21,1	20,6	7,07	ID268	21,2	21,3	7,28	ID47	18,7	18,9	6,32	ID59	15,5	15,6	30,8	ID70	34,3	34,4	59,21	ID133	26,9	27	29,83	ID65	14,2	14,2	9,43	ID5	6,35	6,03	38,07	ID19	14,7	14,6	1
	ID111	25,1	25,3	4,47	ID33	19,9	19,8	23,19	ID0	17	17,1	8,24	ID0	17	17,1	8,24	ID89	8,77	8,8	4,12	ID30	13,2	13,4	22,8	ID44	29,9	29,6	36,76	ID112	13	13,1	9,84	ID335	20,8	14,4	11
	ID41	21,8	21,9	34,23					ID58	28,4	28	40	ID104	22,4	22,4	41,78	ID70	34,3	34,4	59,21	ID95	15,5	15,1	22,8	ID37	20,1	20,2	31	ID105	12,4	12,5	3,16	ID3	28,1	28,4	18,02
	ID101	15,9	16	5,09													ID134	13,4	13,3	8,06	ID134	13,4	13,3	8,06	ID0	13,4	13,2	3,6	ID10	2,96	2,94	11,16				
																	ID105	16	16	4,12	ID279	27,1	27,3	9,21	ID279	27,1	27,3	9,21	ID36	10,9	11	5,56				
																	ID209	15,5	15,4	10	ID36	10,9	11	5,56	ID62	21,1	21,2	14,21	ID43	14,8	14,8					
<b>Rep 3</b>	ID103	13,7	13,7	6,7	ID30	17,7	17,7	9,48	ID2	35,3	35,2	39	ID3	17,7	17,8	21,09	ID29	13,1	13,2	4,47	ID26	14,5	14,6	8	ID1	8,96	9	11,4	ID36	13,5	13,5	5	ID116	11,8	11,9	5,09
					ID11	18,5	18,7	5	ID6	35,1	15,4	6,32	ID11	23,1	23,3	69,64	ID11	15,5	15,6	13,89	ID72	11,2	11,2	9,05	ID32	12	11,8	8,94	ID37	15	15	5,38	ID17	12,2	12,3	33,83
					ID83	26,3	26,5	10,19	ID14	8,81	8,85	35,46	ID4	14,8	14,9	3					ID28	13	13,1	8,06	ID28	13	13,1	8,06	ID127	13	13,1	4,12	ID116	14,3	13,8	48,25
					ID86	18,6	18,8	2,23					ID35	6,2	6,2	6					ID26	19,9	20	1,41	ID9	13,6	13,7	5	ID9	13,6	13,7	5	ID7	12,2	12,1	5,38
					ID105	18	18	3													ID99	3,3	3,39	2	ID49	8,1	8,17	5	ID6	11,3	11,3	7,07	ID6	11,3	11,3	7,07
					ID9	11,6	10,4	59,09													ID212	9,16	9,19	6	ID25	16,6	16,8	2	ID30	20,3	20,5	12,2	ID30	20,3	20,5	12,2
					ID52	12,3	12,4	4,12													ID191	7,69	7,65	5	ID24	12,9	12,8	12,2	ID2	8,48	8,37	26,4	ID2	8,48	8,37	26,4
					ID91	16	16,2	4,47													ID12	6,69	6,19	4	ID35	14,2	14	9,84	ID105	13,7	13,8	5				
																				ID2	15,9	16	10	ID2	15,9	16	10	ID38	11,7	11,5	3,6					
<b>Gjennomsnitt</b>		24,1	24,1	14,6		19,5	19,4	11,5		26,3	21,7	17,3		16,2	16,1	22,6		16,8	16,1	16,4		17,0	17,1	17,9		15,1	15,1	13,4		13,7	13,6	15,8		14,8	14,5	17,8
<b>SD</b>		7,0	7,0	14,2		8,5	8,7	13,6		13,4	9,2	12,3		6,7	6,7	22,8		7,6	6,8	16,2		7,9	7,8	17,9		6,7	6,8	11,0		5,6	5,6	17,5		5,1	5,0	17,6

## Vedlegg D: Hastighet, nauplii

Tabell D1: Gjennomsnittlig hastighet for naupliuslarvene i vertikale salinitetsgradienter. Salinitet viser til saliniteten i brakkvannslaget på salinitetsgradienten. Periode (1–3) er de ulike lyseksponeringene, der periode 1 tilsvarer mørkeperioden, periode 3 tilsvarer hele den totale lysperioden, og periode 2 tilsvarer den første delen av lysperioden for alle saliniteter. ID er objekt-ID til alle sporede nauplii.

		Hastighet (mm/sek)																																			
		32 ppt			30 ppt			28 ppt			26 ppt			24 ppt			22 ppt			20 ppt			18 ppt			16 ppt											
		ID			ID			ID			ID			ID			ID			ID			ID			ID											
		Periode			Periode			Periode			Periode			Periode			Periode			Periode			Periode			Periode											
		1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2						
Rep1	ID1	6,84	6,52	4	ID1	7,81	7,07	12,04	ID5	7,28	6,89	11,66	ID4	6,66	6,31	3,16	ID12	7,11	6,79	7,07	ID1	6,8	6,52	8,54	ID6	8,89	8,49	7,28	ID3	10,44	9,96	11,04	ID60	7,02	6,89	8,06	
	ID15	19,47	18,67	7,28	ID10	6,14	5,82	7,07	ID6	10,25	9,5	8,24	ID4	8,73	8,32	5,09	ID6	6,06	5,73	9	ID6	6,46	6,14	5,09	ID21	6,24	5,88	4,12	ID1	7,56	7,23	14,86	ID24	6,79	6,78	3,16	
	ID0	8,79	8,36	13,34	ID5	5,79	5,48	9	ID1	10,47	9,5	58	ID2	8,3	7,51	7,81	ID2	8,44	8,05	4	ID4	8,48	8,08	5,65	ID21	8,06	7,6	17,72	ID0	6,76	6,26	5,38	ID65	5,48	5,44	6	
	ID14	5,86	5,57	17,26	ID2	6,71	6,35	5,09	ID3	11,46	10,86	8,06	ID3	8,88	8,48	9,21	ID5	5,88	5,63	8,94	ID0	8,92	8,44	11,31	ID7	6,38	5,94	11,4	ID6	11,9	11,4	11,4	ID12	7,1	7,12	2,23	
		ID8	9,16	8,73	2,23	ID8	6,75	6,34	12,8	ID0	6,44	6,11	10,44	ID4	6,1	5,78	9,21	ID7	11,04	10,5	7,07	ID1	10,71	10,23	5,83	ID5	10,86	10,39	8,06	ID64	5,87	5,87	8,54				
		ID4	10,8	10,31	7,28	ID2	13,62	12,97	7,07	ID6	9,95	7	ID12	10	9,5	10,44	ID16	8,17	7,72	13,03	ID12	7,5	7,04	14	ID10	6,77	6,41	8,24	ID56	8,25	7,53	38,91					
		ID36	4,63	4,1	9,05	ID24	12	11,32	14,14	ID5	7,4	7	18,02	ID11	7,29	6,93	8,6	ID2	7,88	7,53	18,43	ID8	7,53	7,11	4,24	ID11	13,43	12,55	41	ID154	5,61	5,58	5				
		ID27	6,89	6,54	5	ID172	14,15	13,58	ID50	9,39	8,95	8,06	ID10	7,15	6,81	3	ID3	7,46	7,32	1	ID9	15,82	15,09	6,4	ID4	7,73	7,35	16,12	ID47	9,34	9,38	4,12					
		ID7	5,09	4,85	5	ID51	4,27	4	5	ID9	11,13	10,62	9,48	ID7	14,59	13,9	8,6	ID15	8,18	7,72	14,86	ID16	13,41	12,8	39,59	ID7	16,71	15,67	3,6	ID2	8,07	8,08	1				
		ID29	2,09	2,71	5,09	ID13	11,82	11,3	7,21	ID8	14,16	13,55	3,6	ID20	11,73	11,22	5,09	ID18	15,64	14,93	5,09	ID20	14,71	13,94	9	ID2	11,73	11,24	11,04								
									ID39	6,98	6,62	6,08					ID9	12,26	11,66	3,16	ID13	12,78	13,09	2,82	ID15	12,45	11,9	6,32									
									ID10	7,56	7,16	8,06					ID32	6,3	6,01	5	ID3	9,72	9,29	1,41	ID8	13,6	12,93	10,29									
																	ID10	9,13	8,67	9,21	ID12	9,03	8,6	11,04													
																	ID9	6,4	5,77	8,54	ID12	5,44	5,48	15,03	ID6	6,9	6,85	8,6									
Rep 2	ID89	10,75	10,15	9,48	ID2	9,74	9,28	8,94	ID3	8,85	8,36	9,21	ID13	7,59	7,61	7,07	ID73	18,54	17,78	ID10	6,81	6,79	10,19	ID18	6,73	6,72	6	ID12	5,44	5,48	15,03	ID6	6,9	6,85	8,6		
	ID14	12,3	11,75	16,49	ID21	10	9,42	19,1	ID21	10,8	10,31	8,06	ID13	6,18	6,18	7,21	ID617	11,84	11,36	ID102	17,75	ID15	5,17	5,16	6	ID47	7,46	7,41	12,72	ID12	9,09	9,07	6,4				
	ID96	13,14	12,44	8	ID5	7,85	7,33	15,26	ID4	5,92	5,67	10	ID12	8,4	8,4	5,38	ID3	8,41	8,02	7,07	ID8	9,31	9,35	5,09	ID14	6,84	6,83	7	ID25	10,03	10,05	15,81	ID10	7,85	7,87	8,6	
	ID178	9,59	9,07	13	ID11	10,43	9,77	11,18					ID9	6,38	6,4	1,41	ID9	5,67	5,36	6,7	ID6	11,6	11,61	7,81	ID6	11,6	11,61	7,81	ID8	10,85	10,88	5	ID3	12,02	12,06	12,52	
	ID81	13,67	13,03	10,19	ID3	11,31	10,79	2	ID8	8,85	8,83	4	ID16	7,59	7,27	18,43	ID16	7,59	7,27	18,43	ID3	10,38	10,39	7,28	ID6	7,16	7,19	5	ID14	11,29	11,27	15					
		ID28	9,44	9,94	10	ID4	9,85	9,29	6,4	ID2	10,3	10,28	5,38	ID15	9,79	9,38	8,06	ID15	9,79	9,38	8,06	ID10	7,97	7,99	6,08	ID5	14,63	14,64	9	ID5	12,39	12,43	11,4				
		ID4	9,85	9,29	6,4	ID17	13,32	12,67	7,07	ID10	6,31	6,23	6	ID1	12,22	11,65	2,23	ID1	12,22	11,65	2,23	ID0	10,07	10,09	7,07	ID0	10,07	10,09	7,07	ID22	9,08	9	9,21				
		ID17	13,32	12,67	7,07	ID6	10,09	9,51	15,13	ID44	10,54	10,6	4,12	ID11	12,37	11,83	2,82	ID11	12,37	11,83	2,82	ID2	9,29	9,34	5	ID2	9,29	9,34	5	ID54	10,38	10,29	32,06				
		ID1	17,29	16,55	12,52	ID9	22,49	21,51	5	ID6	4,39	4,37	6,7	ID2	9,93	9,44	8,94	ID2	9,93	9,44	8,94	ID11	11,58	11,62	6,32	ID11	11,58	11,62	6,32	ID17	8,25	8,16	10,04				
		ID9	22,49	21,51	5	ID12	13,77	13,12	18,43					ID10	12,15	11,62	6,08	ID10	12,15	11,62	6,08	ID20	8,89	8,89	7,07	ID20	8,89	8,89	7,07	ID15	10,09	10,11	7,61				
	ID0	15,92	15,22	4,47									ID6	6,49	6,15	28,79																					
Rep 3	ID79	9,94	10,02	7,07	ID24	5,75	5,78	7,07	ID50	6,36	6,31	11,66	ID34	5,27	5,28	8,94	ID35	8,51	8,48	2,23	ID123	5,11	5,07	9,43	ID6	6,46	6,45	4,12	IS28	14,88	14,95	14,86	ID34	6,56	6,54	3,6	
	ID80	22,08	22,24	25,49	ID19	7,32	7,31	10,04	ID47	6,35	6,35	3,16	ID38	6,25	6,29	5	ID42	5,93	5,89	6,32	ID38	6,95	6,84	12,08	ID7	6,6	6,63	6,32	ID31	6,14	6,18	2,23	ID11	6,41	6,42	9,43	
	ID21	20,57	20,68	10	ID18	7,56	7,6	5,09	ID42	9,84	9,77	10,29	ID58	7,47	7,38	18,11	ID110	6,63	6,56	13,45	ID258	5,04	4,98	10,77	ID0	6,29	6,31	7,81	ID5	11,78	11,79	10,44	ID36	6,19	6,09	14	
	ID20	20,86	21,01	2	ID0	6,14	6,16	2	ID43	9,25	9,24	5	ID0	6,34	6,29	3	ID129	8,6	8,4	11,66	ID42	6,27	6,3	5	ID9	7,67	7,68	8,54	ID25	11,54	11,61	5	ID13	6,51	6,37	19	
	ID10	21,13	21,18	14,86	ID0	10,19	10,25	6,08	ID147	6,53	6,55	5,09	ID57	6,22	6,24	2,82	ID62	6,34	6,37	7,61	ID35	8,97	8,94	5	ID17	11,76	11,78	9,05	ID39	10,43	10,49	4	ID12	6,8	6,76	25,01	
	ID23	22,45	22,4	24,35	ID71	12,12	12,23	ID118	6,53	6,52	14,56	ID36	6,88	6,79	14,42	ID0	8,19	8,23	4,12	ID0	7,08	7,02	26,62	ID11	5,66	5,67	6,08	ID9	10,81	10,86	5	ID7	7,19	7,19	10,19		
		ID68	9,48	9,53	4,12	ID45	10,3	10,18	8,54	ID56	3,89	3,8	11,04	ID56	3,89	3,8	11,04	ID6	13,5	13,58	3,16	ID212	5,39	5,32	2,23	ID15	9,95	9,91	23	ID19	5,76	5,54	20,24	ID8	8,71	8,74	7
		ID66	3,9	3,88	6					ID30	4,12	4,11	6,4	ID85	9,81	9,82	4,47	ID176	7,32	7,35	11,04	ID3	7,68	7,69	6	ID23	5,9	5,84	31,95	ID10	8,22	8,25	4				
		ID67	5,84	5,84	5					ID51	3,38	3,3	2,23	ID263	12,28	12,34	8,06	ID121	11,62	11,72	4,12	ID3	7,68	7,69	6	ID2	6,61	6,63	55,5	ID40	8,59	8,57					
		ID1	3,48	3,45	5					ID2	8,15	8,14	11,04	ID7	14,79	14,88	6,32	ID1	11,41	11,37	6,32	ID1	11,41	11,37	6,32	ID29	2,28	2,25	5	ID5	5,13	4,92	3,12				
																	ID39	12,28	12,08	20,51									ID38	5,12	5,13	3					
Gjennomsnitt		14,5	14,2	12,2	9,0	8,7	7,9	9,1	8,8	11,5	7,5	7,2	7,3	9,6	9,3	7,9	8,8	8,2	9,1	9,1	8,9	8,7	9,1	8,9	8,7	9,6	9,3	12,8	8,1	8,1	10,6						
	SD	5,8	5,9	6,5	4,2	3,9	4,4	2,7	2,5	11,4	2,3	2,2	4,0	3,1	3,0	5,1	3,1	2,5	6,0	2,7	2,6	7,0	2,7	2,6	7,0	3,3	3,2	11,3	2,1	2,1	8,3						

