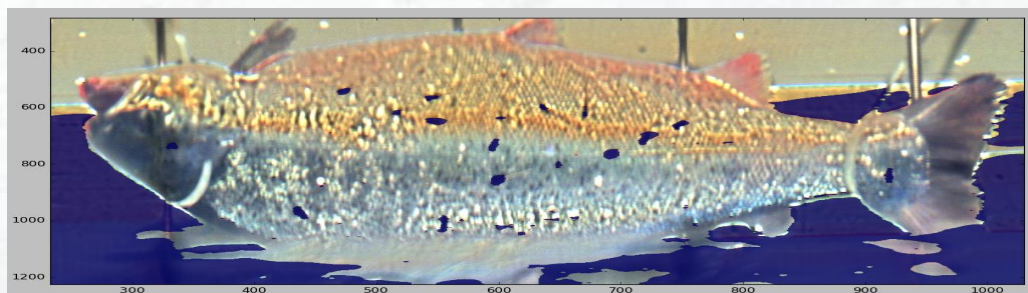


Klassifisering og telling av lakselus

Automatisk klassifisering og telling av lakselus med undervanns hyperspektral avbildning: Videreføring



This page is intentionally left blank

Akvaplan-niva AS

Rådgivning og forskning innen miljø og akvakultur

Org.nr: NO 937 375 158 MVA



Pirsenteret

7010 Trondheim

Tlf: +47 77 75 03 00

www.akvaplan.niva.no/trondheim



Rapporttittel / Report title Klassifisering og telling av lakselus. Automatisk klassifisering og telling av lakselus med undervanns hyperspektral avbildning: Videreføring	
Forfatter(e) / Author(s) Lars Martin Sandvik Aas, Ecotone as Bartłomiej Gawel, Ecotone as Ragnhild Pettersen, Akvaplan-niva as Jørgen Tegdan, Ecotone as Kristin Sæther, Akvaplan-niva as	Akvaplan-niva rapport nr / report no 8051
	Dato / Date 30.06.2016
	Antall sider / No. of pages 38
	Distribusjon / Distribution Offentlig
Oppdragsgiver / Client Fiskeri- og havbruksnæringens forskingsfond (FHF)	Oppdragsg. referanse / Client's reference Prosjektnr. 901212
Sammendrag / Summary Med bruk av UHI-kamera kan man detektere lakselus på laks under vann. Dette gjelder både kjønnsmodne lus, bevegelige lus og enkelte store fastsittende lus. Lusene kan klassifiseres automatisk.	
Prosjektleder / Project manager  <hr/> Kristin Sæther	Kvalitetskontroll / Quality control  <hr/> Anita Evenset

© 2016 Akvaplan-niva AS. Rapporten kan kun kopieres i sin helhet. Kopiering av deler av rapporten (tekstutsnitt, figurer, tabeller, konklusjoner, osv.) eller gjengivelse på annen måte, er kun tillatt etter skriftlig samtykke fra Akvaplan-niva AS.

Innhold

FORORD	2
1 SAMMENDRAG	3
2 INNLEDNING	4
2.1 Undervanns hyperspektral avbilder (UHI)	4
2.2 Databehandling og analysemetoder	5
2.3 Litteraturstudium	5
2.4 Målsetting	5
3 MATERIALE OG METODER	7
3.1 Innsamling av lakselus og laks	7
3.2 Arbeidspakke 1- Klassifisering av lus på nøytral bakgrunn.....	8
3.2.1 Målinger	8
3.3 Arbeidspakke 2 – Klassifisering av lus på laks	13
3.3.1 Målinger	13
3.3.2 Analysemetoder	14
4 RESULTATER OG DISKUSJON	15
4.1 Arbeidspakke 1 – Klassifisering av lus på nøytral bakgrunn	15
4.2 Arbeidspakke 2 – Klassifisering av lus på laks	19
4.2.1 Klassifisering av lus i ulike stadier på laks	24
4.2.2 Fastsittende lus	25
5 KONKLUSJON OG FREMTIDSPERSPEKTIVER	28
LITTERATUR	29
VEDLEGG 1	31
Litteraturstudium: Lys og lakseadferd.....	31
VEDLEGG 2	33
Undersøkelse av skottelus	33

Forord

Fiskeri- og havbruksnæringens forskingsfond (FHF)-prosjekt 901212, Klassifisering og telling av lakselus, er en videreføring av FHF-prosjekt 901093 som ble gjennomført i 2015 (Sæther et al., 2015). Forprosjektet viste at det var mulig å bruke undervanns hyperspektral avbildning (UHI) til å detektere lus på laks under vann. Det ble også vist at det var mulig å skille ulike stadier av lusas utvikling ved avbildning i luft. Det ble søkt om en videreføring av forprosjektet hvor det skulle undersøkes om man kan skille lusas ulike utviklingsstadier ved hjelp av UHI når lusa sitter på en laks under vann. Denne rapporten er en oppsummering av dette arbeidet.

Prosjektet har vært et samarbeid mellom Akvaplan-niva og Ecotone.

Akvaplan-niva har ledet prosjektet, hatt ansvar for å evaluere data, og foreta en faglig vurdering av resultatene. Akvaplan-niva har også bidratt med oppfølging av måloppnåelse og leveranser, kommunikasjon med eksterne partnere, samt hatt ansvar for budsjett og rapportering.

Ecotone har bidratt med utstyr og spesialkompetanse for hyperspektral avbildning og stått for gjennomføring av målinger og tolkning av data. I tillegg har Ecotone vært ansvarlig for gjennomføring av forsøk, presentasjon av data, utvikling av tolkningsalgoritmer, samt bidratt med evaluering av data og rapportering.

Aqua Kompetanse AS vært innleid for innsamling av lus og laks, og for å bistå ved feltforsøk.

MarinHelse AS har vært innleid for innsamling av skottelus.

Prosjektet har vært mulig å gjennomføre på grunn av finansiering fra Fiskeri- og havbruksnæringens forskingsfond, FHF. Prosjektgruppen vil rette en stor takk til FHF og kontaktperson Kjell Maroni for god støtte og veiledning underveis i prosjektet.

Det ble opprettet en styringsgruppe for prosjektet, bestående av representanter fra oppdrettsnæringa, og i tillegg har en representant fra FHF deltatt i styringsgruppens møter. Det har vært to møter i styringsgruppa i løpet av prosjektperioden. Prosjektleder har vært ansvarlig for kontakt mellom prosjektgruppe og styringsgruppe, og har fungert som sekretær for styringsgruppa.

Den FHF-utnevnte styringsgruppen for prosjektet har bestått av:

- Marit Stormoen, Marine Harvest
- Arne Guttvik, Salmar
- Harald Sveier, Lerøy SFG
- Kjell Maroni (FHF representant)

Prosjektgruppen vil rette en stor takk til styringsgruppen for nyttige innspill og kommentarer underveis i prosjektet.

1 Sammendrag

Lakselus er en stor utfordring i lakseoppdrett. For å håndtere denne utfordringen på en optimal måte er det viktig å ha best mulig kunnskap om den faktiske lusesituasjonen. Telling av lakselus er krevende, og resultat av telling avhenger av både kunnskap og erfaring hos teller.

Til bruk i bl.a. petroleumssektoren er det utviklet en Undervanns Hyperspektral Avbilder (UHI) som automatisk detekterer ulike levende organismer basert på lyset de reflekterer. Formålet med det foreliggende prosjektet har vært å avdekke om UHI-teknologien også kan benyttes til automatisk telling av lakselus på laks.

Undersøkelsen er gjennomført i to arbeidspakker. I den første arbeidspakken ble lus innsamlet og identifisert av fiskehelsepersonell før lab-forsøk med UHI ble utført. Arbeidspakke 2 ble gjennomført med feltforsøk ved ventemerdanlegg til et slakteri, med både fiskehelsepersonell og personell med UHI-kompetanse tilstede.

Resultatene viser at UHI kan klassifisere lakselus på nøytral bakgrunn. I arbeidspakke 1 forsøkte man å automatisk skille bevegelige lus og kjønnsmodne hunnlus, og treffprosenten for dette forsøket lå på 92-100 %.

Resultatene i arbeidspakke 2 viser at teknologien også kan gjenkjenne lus på laks under vann. De aller fleste lusene som er synlige for kameraet blir gjenkjent. Videre blir disse lusene kategorisert i ulike stadier, og treffprosenten for dette er på samme nivå som for lus på nøytral bakgrunn.

I forsøkene med lus på laks er også fastsittende lus inkludert. Forsøkene viser at de minste stadiene ikke er detekterbare med dagens kamerasystem, men at noen av de større fastsittende lusene både blir detektert og korrekt klassifisert som fastsittende lus. Ved å optimalisere kamera og optikk er det potensiale for å kunne se også mindre fastsittende lus.

Som en sideaktivitet ble det også undersøkt om resultatene blir påvirket av skottelus. Resultatene viser at UHI kan skille skottelus fra lakselus med stor treffsikkerhet (vedlegg 2).

Prosjektet danner grunnlag for et videre utviklingsarbeid som kan lede fram til en praktisk anvendbar løsning for automatisk telling av lakselus.

2 Innledning

Lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) er en stor utfordring i lakseoppdrett. Parasitten er en potensiell fare for både oppdrettsfiskens velferd og for ville bestander av laksefisk. Myndighetene stiller derfor krav om at smittepresset fra lakseoppdrett ikke kan overstige definerte nivå. Kravene er nedfelt i en egen forskrift (Luseforskriften, 2012).

Luseforskriften stiller krav om regelmessige tellinger av lakselus. Lakselusa har 8 ulike utviklingsstadier. I de første to stadiene svømmer lakselusa fritt i vannmassene. Deretter kommer det infektive stadiet, hvor lakselusen finner og setter seg fast på laks eller ørret. Lakselusa sitter da fast på fisken gjennom to stadier, før den begynner å bevege seg. Lakselusa lever resten av livet sitt på fisken hvor den skifter skall adskillige ganger og til slutt blir kjønnsmodne hanner og hunner.

Spredning av parasitten skjer når lusa har blitt kjønnsmoden. Luseforskriftens krav omhandler derfor det gjennomsnittlige antall kjønnsmoden lakselus pr. fisk som maksimalt kan være i et anlegg. For å forebygge utviklingen av kjønnsmoden lus stiller Luseforskriften også krav om telling av lus som er i de øvrige utviklingsstadier, slik at tiltak kan settes i verk før lusa blir kjønnsmoden.

Telling av lakselus er krevende, bl.a. pga. størrelsen på lusa i dens tidlige stadier. Lakselusa er bare omtrent 1 mm når den fester seg på laksen. Nøyaktigheten i telling av lakselus avhenger både av kunnskap og erfaring. Undersøkelser viser at det er stor variasjon mellom ulike røktere mht. kompetanse på lusetelling. Det hersker størst usikkerhet rundt telling av de minste lusestadiene, da disse kan være vanskelig å se. Samtidig er det av stor betydning for oppdretteren å fange opp endringer i smittepress så tidlig som mulig, for dermed å iverksette tiltak til optimalt tidspunkt. Næringen har et tydelig behov for økt kvalitet på telling av fastsittende lusestadier.

For å kunne telle lus må et representativt utvalg av oppdrettsfisk samles inn, bedøves og undersøkes for lus i luft. Dette kravet gjelder gjennom hele året, og innebærer en utfordring for fiskevelferden. Dette gjelder spesielt ved lave lufttemperaturer.

Fordi nøyaktigheten avhenger av personen som er satt til å telle, og fordi konsekvensen av høye lusetall er store for oppdrettere, har enkelte kritikere til oppdrettsnæringen spekulert i om lusetallene som rapporteres til myndighetene er korrekte. For oppdrettere er telling av lakselus i tillegg ressurskrevende fordi den må gjennomføres manuelt.

2.1 Undervanns hyperspektral avbilder (UHI)

Et vanlig kamera måler bare hvor mye rødt, grønt og blått (RGB) lys som kommer tilbake fra objektet man ser på, altså tre farger. Et hyperspektralt kamera deler opp fargespekteret og kan avbilde et objekt med flere hundre forskjellige farger i hver piksel.

Ecotone har utviklet en Undervanns Hyperspektral Avbilder (UHI), i første omgang for kartlegging av marine habitater. Denne teknologien har vært prøvd på flere feltundersøkelser i ulike norske farvann de siste par årene. Teknologien har vist seg å være i stand til å automatisk detektere ulike levende organismer basert på lyset de reflekterer. Avbilderen kan måle hele det synlige lysspekteret med høy presisjon, og den spektrale signaturen som måles kan brukes til å skille ulike objekter og levende arter fra hverandre. Teknologien har så langt vært benyttet på ulike bunndyr som koraller, svamp og anemoner, og på menneskeskapt installasjoner som rørledninger, men den kan også benyttes på mange andre arter og objekter under vann.

I forprosjektet som ble gjennomført i 2015 (Sæther et al., 2015) ble det vist at teknologien kan brukes til å gjenkjenne lus på laks under vann, og det ble vist at man automatisk kan klassifisere lus i ulike stadier.

I dette prosjektet er Ecotones siste versjon av undervanns hyperspektral avbilder (UHI3) benyttet til avbildning av lus. Det er det samme utstyret som ble brukt i forprosjektet. Kameraet måler lys med bølgelengde mellom 400 nm og 700 nm med en oppløsning på 5 nm. Dette gir omtrent 60 fargekanaler. Den faktiske båndbredden begrenses her, som i de fleste tilfeller, av kombinasjonen mellom båndbredden til lampen som blir brukt og vannets absorpsjonsegenskaper. Det måler en piksel-rad om gangen, og kameraet eller objektet beveges med en viss avstand og hastighet for å lage et to-dimensjonalt bilde.

2.2 Databehandling og analysemetoder

Rådataene som tas opp med UHI går gjennom flere prosesseringstrinn for å gi det ønskede resultatet. Først korrigeres det for den variasjon i sensoren og i optikken som er brukt. Deretter vil man ved ulike metoder justere for de aktuelle lyskildene som er brukt og for at noe av lyset blir absorbert av vannet. Etter dette sitter man i teorien igjen med hyperspektrale data som skal være uavhengige av instrument og lyskilde som ble brukt til opptak, og av at det er vann mellom objektet og kameraet. I praksis klarer man ikke å fjerne alle slike effekter, men man oppnår et godt nok resultat til at man kan gjenkjenne objekter basert på deres spektrale signatur. Normalisering av spektre (dividere intensiteten i hvert målte bølgebånd på summen av intensiteten i alle bølgebåndene) gjør at mørke objekter blir mer visuelt synlig i bildet, og at lysforholdet ikke påvirker resultatet i for stor grad. Etter denne pre-prosesseringen av data, starter analysen som gjenkjenner signaturer og skiller ulike objekter fra hverandre.

Etter pre-prosessering av data starter analysen som gjenkjenner signaturer og skiller ulike objekter fra hverandre med metoder som Spectral Angle Mapper (SAM), K-means og Partial Least Squares (PLS). Disse metodene ble testet og vurdert i forprosjektet. De metodene som ga de beste resultatene da er videreført i dette prosjektet.

2.3 Litteraturstudium

Det er gjennomført et litteraturstudium som fokuserte på bruk av lys i oppdrettsanlegg og laksens adferd og fysiologi i tilpassing til introduserte lyskilder. Hormonet melatonin finnes i laksen og er med på å styre laksens døgnrytme og virker dermed også som en indre klokke i forhold til kjønnsmodning og årstidsvariasjoner. Melatoninnivået hos laksen påvirkes av lys og derfor er det viktig å regulere lys og lysbruk i oppdrettsanlegg i forhold til årstiden slik at en uønsket for tidlig kjønnsmodning av laksen ikke provoseres frem ved uriktig bruk av lys (Vedlegg 1).

2.4 Målsetting

Målsettingen med prosjektet er å verifisere at UHI kan brukes til identifisering, klassifisering og telling av lakselus på laks under vann.

Overordnet mål er å utvikle en ny metode for telling av lakselus ved hjelp av ny teknologi.

Prosjektet har vært bygget opp med ett hovedmål og to delmål.

Delmålene er:

1. Klassifisere lakselus i ulike stadier under vann med bruk av UHI.
2. Klassifisere lakselus i ulike stadier under vann når lusa sitter på laks.

1. Klassifisere lakselus i ulike stadier under vann med bruk av UHI

Delmålet omfatter å identifisere og gjenkjenne den spektrale signaturen til lakselus i ulike stadier, og undersøke mulighetene for å skille de ulike stadiene av lakselus spektralt.

Resultatene fra undersøkelsene danner grunnlag for beslutning om videre arbeid i prosjektet.

2. Klassifisere lakselus i ulike stadier under vann når lusa sitter på laks

Her er målet at man skal gjenta klassifiseringen fra første del når lusa sitter på laks i stedet for på en nøytral bakgrunn. Det skal undersøkes hvilke stadier av lakselus man kan detektere ved hjelp av UHI, og man skal sammenligne resultatene med manuelle tellinger gjort av fiskehelsepersonell.

Dersom studiet gir de ønskede resultater, vil det danne grunnlag for et større utviklingsprosjekt som kan lede fram til en praktisk anvendbar løsning for automatisk telling av lakselus. Ved bruk av UHI kan lakselus telles uten at laksen håndteres. Dagens krav til telling medfører både bedøvelse og opphold i luft for oppdrettslaksen. Dette er en utfordring spesielt i vinterhalvåret med lave temperaturer i luft. UHI vil derfor gi en klar forbedring for fiskevelferden ved telling av lakselus.

Luseforskriften (2012) stiller krav til hvor mange laks som må telles for lus. Med bruk av UHI kan telling gjennomføres for et langt større antall laks. Det statistiske grunnlaget for å fastslå lusepresset vil med dette forbedres betydelig. Dette gir sikrere tall og bedre grunnlag for igangsetting av evt. tiltak mot lakselus.

Det er et ønske at UHI skal være i stand til å identifisere alle stadier av lakselus. For tidlige stadier er lusa svært liten og vanskelig å se, selv med manuell telling. I tillegg har lakselusa en farge som gjør at den lett forveksles med normale fargeforskjeller på laksen. Ved manuell telling er det derfor lett å overse lakselus av de minste stadiene, og tellingen blir unøyaktig. Ved automatisk telling av disse stadiene vil oppdretter og forvaltning få en sikker telling på et tidligere tidspunkt. Dette bedrer handlingsrommet for å sette inn tiltak for å fjerne lakselus før den blir kjønnsmoden og en smittefare for annen oppdrettslaks og villaks.

Bruk av UHI for telling av lakselus medfører at tellingen blir objektiv. Konsekvenser av for høye lusetall på en lokalitet er i dag store for oppdrettere. For andre oppdrettere og av hensyn til ville bestander er det viktig at en kjenner til det reelle lusepresset fra hver enkelt lokalitet. Med automatisk telling elimineres mistenkeligjøringen av lusetall i næringa.

3 Materiale og metoder

3.1 Innsamling av lakselus og laks

Det ble gjennomført to innsamlinger av henholdsvis lakselus og laks med lus. Innsamling av lakselus ble gjort i henhold til prosedyre som er beskrevet for innhenting av lakselus til bioassay/ følsomhetsundersøkelser (Sevatdal, 2011). Lusene ble plukket dagen før avbildningen ble utført og oppbevart under stabile miljøforhold i perioden fra sinking til forsendelse. Glassflasker ble fylt med 1 l filtrert sjøvann før oppstart av lusesankingen. Det nødvendige antall fisk ble anestesert og lakselus ble plukket forsiktig med pinsett og direkte overført til flaskene. Ideelt antall lus per flaske ble satt til 30, mens maksimalt antall lus per flaske ble satt til 50 stykk. Sanket lus ble sortert av fiskehelsepersonell i følgende stadier: bevegelige lus – kjønnsmodne hannlus – kjønnsmodne hunnlus. Flaskene ble plassert i kjøleboks med en temperatur på 10-12 °C umiddelbart etter plukking. Lufting av flaskene ved hjelp av en lang kanyle ble utført ved ankomst på kontoret.

Laks med fastsittende lus ble plukket fra et slakteri. Fiskehelsepersonell registrerte lusenes stadier og plassering i egne "bodymap" for hver fisk. Fisken ble pakket i isoporkasser med is.

Lus og laks ble sendt via båt og buss til Trondheim, hvor de ble direkte overført til avbildning i Ecotones våtlab.

I den første forsendelsen av lus ble det sendt ca. 100 levende lus i ulike stadier og den andre forsendelsen ble det sendt 20 hele laks med fastsittende lus (Tabell 1).

Tabell 1. Oversikt over innhold av laks og lus i de forskjellige forsendelsene.

Dato	Fastsittende (antall)	Bevegelige	Kj.modne hunnlus	Laks	Kommentar
03.03.2016	-	50	50	-	Hovedforsendelse for arbeidspakke 1
19.05.2016	20	-	-	20	Tilleggsforsendelse til arbeidspakke 2

Lus til hoveddelen av arbeidspakke 2 inngår ikke i oversikten av forsendelse da avbildningen ble utført ved ventemerid på slakteriet.

Feltforsøkene i Arbeidspakke 2 ble gjennomført på et slakteri i Midt-Norge av personell fra Aqua Kompetanse og Ecotone. Laks ble avlivet og plassert direkte i et avbildningskar fylt med sjøvann. Etter avbildning med UHI ble antallet lus på fisken telt av fiskehelsepersonell og det ble laget et kart over lusas plassering på fisken («bodymap»).

3.2 Arbeidspakke 1- Klassifisering av lus på nøytral bakgrunn

3.2.1 Målinger

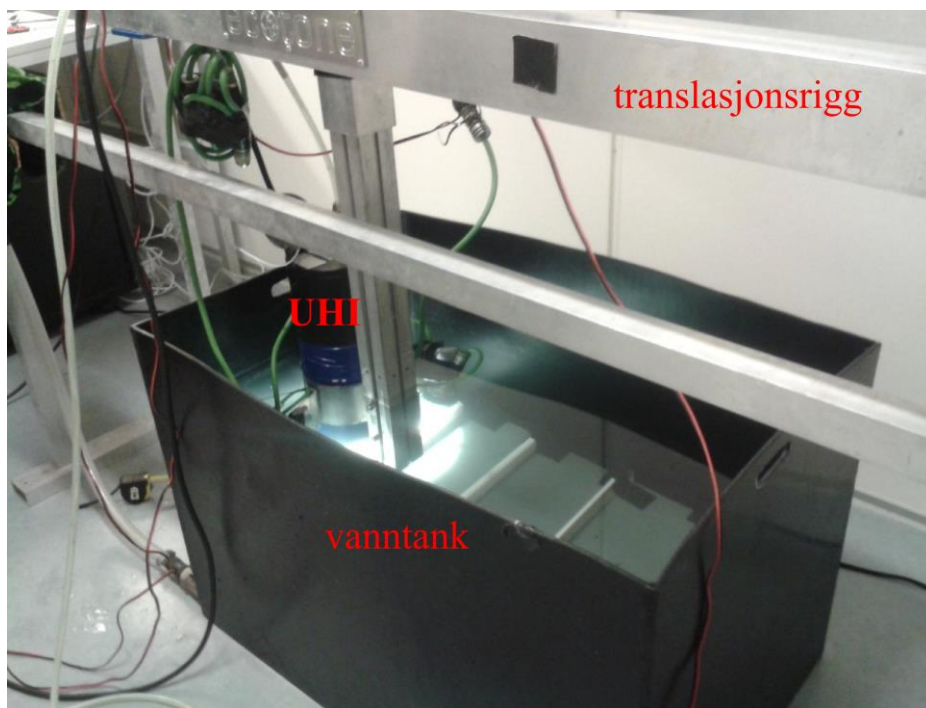
For å undersøke om den spektrale informasjonen kan brukes til å bestemme lusas utviklingsstadium også under vann ble avbildning av forhåndskategorisert lus gjennomført. Lus i ulike stadier ble senket ned i vannet ved hjelp av en metallsil, i et forsøk på å holde lusene lokalisert adskilt. Det ble også satt opp ca. 7 cm høye skillevegger i karet. Lusene svømte såpass mye rundt at det ikke var mulig å ha alle lusene oppi karet på en gang. Avbildningen ble derfor gjennomført i to runder. Bevegelige stadier av lus og kjønnsmodne hannlus er de to typene som er vanskeligst å skille via formen. Kjønnsmodne hunnlus og kjønnsmodne hannlus ble avbildet først. Deretter ble karet tømt for hannlus, og bevegelige stadier av lus ble senket ned og avbildet.

Det ble gjort tester med hvitt lys, LED-lamper og halogenlamper. Lysspekteret til halogenlys dekker det spektrale måleområdet best av disse. Det er derfor brukt halogen-lamper under forsøkene. Mens målingene pågikk var rommet for øvrig mørklagt.

Som nøytral bakgrunn ble det brukt en mattet grå PVC plate. Med denne plata er det mulig å kompensere for variasjon i belysning og optisk veilengde. Siden vann absorberer lys, vil det komme mer lys tilbake fra lus som ligger rett under kameraet enn fra de som ligger litt ut til siden fordi veien lyset må gå gjennom vann blir kortere.

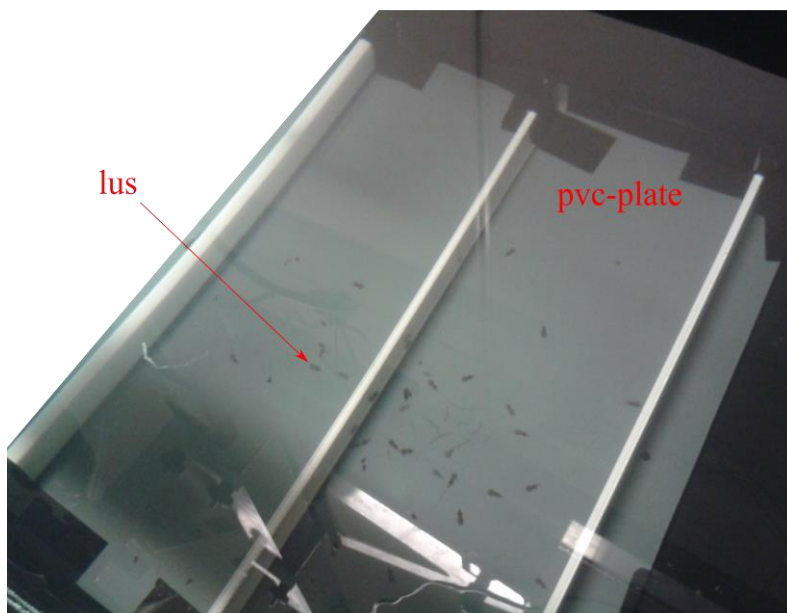
Avbildning ble gjort i avstandene 15 cm, 20 cm, og 30 cm. Varierende avstand til objektet er en utfordring for UHI når de spektrale forskjellene på objektene som skal skilles er liten. Dette er tilfelle når man ønsker å skille lus av ulik type. Årsaken er at vannet absorberer forskjellige deler av spekteret med ulik styrke, noe som betyr at den observerte fargen på et objekt vil endre seg når lengden på vannsøyla endrer seg. Den beste måten å kompensere for denne forskjellen er å ha et lite område med kjent fargespekter i samme avstand som lusa. Dette var årsaken til at det i arbeidspakke 1 ble brukt en grå PVC plate (Figur 2) med kjent fargespekter som bakgrunn for målingene.

For å konstruere bildet ble UHI og lys montert på en translasjonsrigg som beveget seg i en jevn fart over objektene. Se Figur 1 for et foto av oppsettet.



Figur 1. Fotografi av oppsettet for måling av lus i vann. Lusene ble senket ned under vann og plassert i et avgrenset område ved hjelp av ei metallsil.

Tilsammen ble det avbildet 30 bevegelige lus, 13 kjønnsmodne hannlus og 32 kjønnsmodne hunnlus.

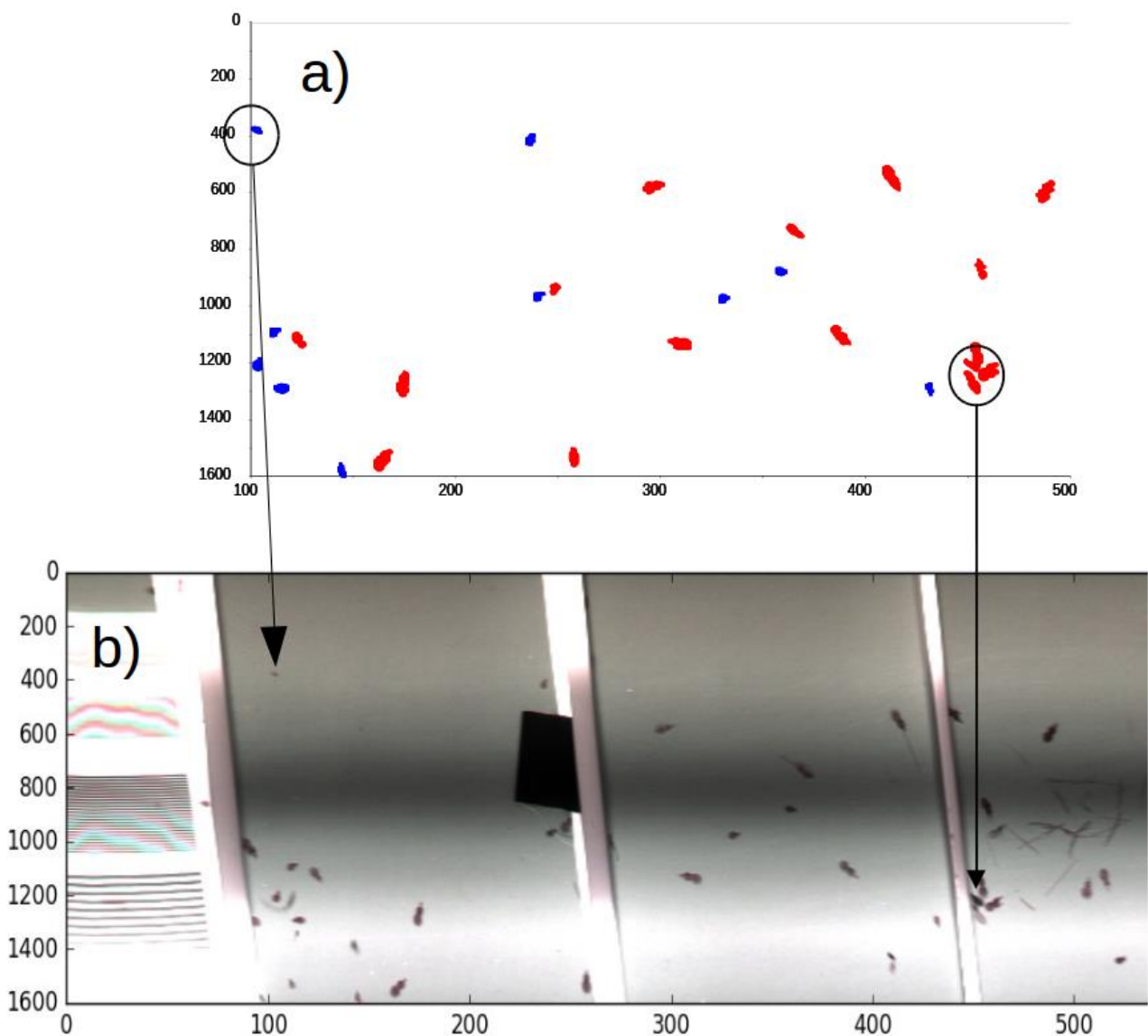


Figur 2. Fotografi av bunnen av avbildningskaret med nedsenkede lus.

Etter avbildning ble UHI-bildene overført Ecotones databehandlingssoftware, hvor pikslene som tilhører ulike lus ble gruppert og kategorisert. De målte spektrene ble deretter eksportert til det multivariate-analyseprogrammet Unscrambler.

I Unscrambler ble det først beregnet et gjennomsnittsspekter for hver lus. Deretter ble metodene «Partial least square» (PLS), «support vector machine» (SVM), «linear discriminant analysis» prøvd ut, og robustheten undersøkt. Dette er etablerte statistiske metoder for å gjenkjenne mønstre i datasett med mange variabler (multivariat analyse). De har litt ulike egenskaper, og det er ikke på forhånd gitt hvilken metode som vil gi det beste resultatet når man skal klassifisere et ny type data slik det her er snakk om.

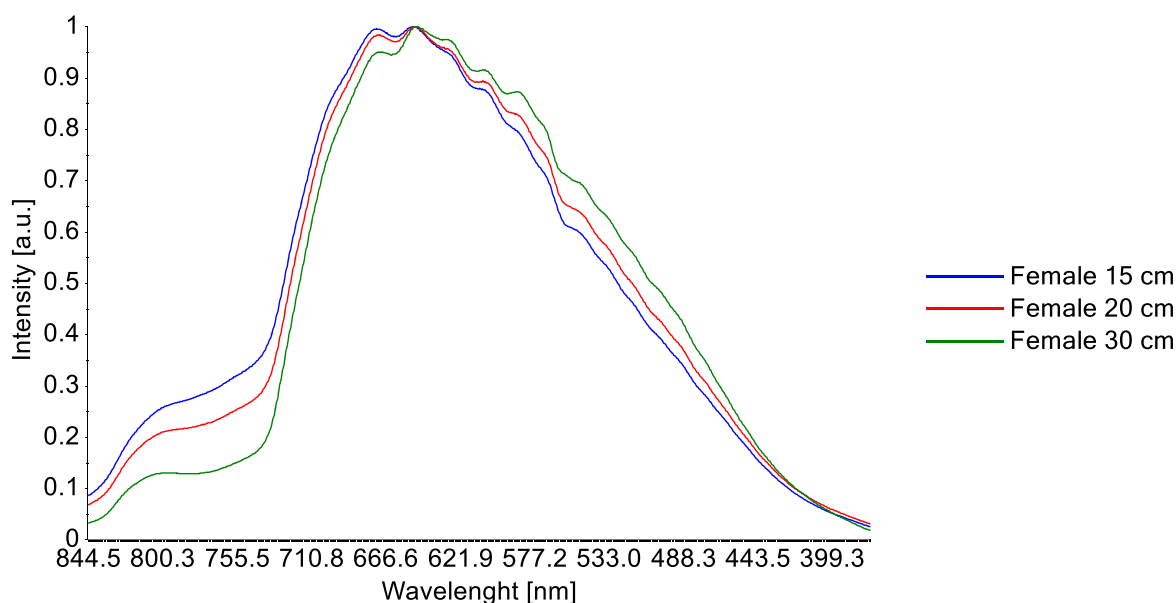
Figur 3a viser et eksempel på piksler som identifisert som lus. Her er røde piksler kjønnsmodne hunnlus og de blå pikslene er kjønnsmodne hannlus. Det tilsvarende RGB-bildet (rødt, grønt og blått bilde) er vist i Figur 3b. Tilsvarende kategorisering som dette ble gjort for målinger i tre forskjellige avstander til lusa. De kategoriserte pikslene ble videre brukt til å undersøke om gode statistiske modeller kunne lages for å klassifisere lusene i ulike kategorier.



Figur 3. Viser a) eksempel på forhåndsklassifisering av piksler b) Kontrastbilde som viser lus, og hvordan de ligger på den grå bakgrunnen.

Vannets varierende absorpsjon som funksjon av bølglengden påvirker det målte spekteret av lus. Figur 4 illustrerer dette ved å vise det midlere målte gjennomsnittsspekteret for hunnlus

målt på 15, 20 og 30 cm. På større avstand vil også total intensitet bli lavere, men spektrene er her normalisert for å illustrere den relative spektrale endringen.

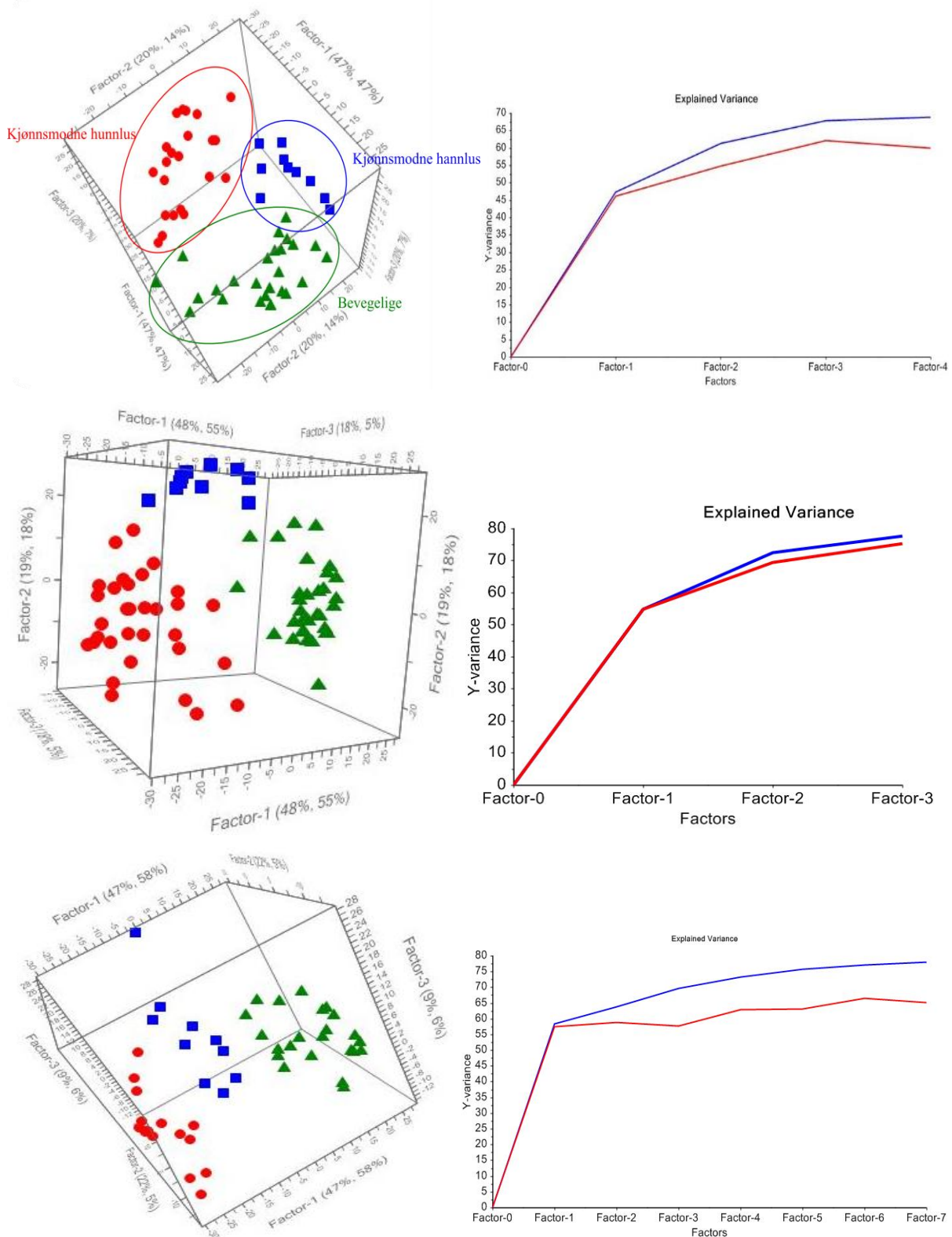


Figur 4. Målte gjennomsnittsspektre for hunnlus i avstanden 15, 20 og 30 cm. Forskjellen i spektrene viser den optiske veilegningens påvirkning på spektrene.

På bakgrunn av dataene fra lusene ble det laget statistiske modeller som fanger opp og beskriver den spektrale forskjellen mellom lus i de tre ulike stadiene. Flere typer multivariate metoder har blitt testet (Prinsipal Component Analysis (PCA), Linear Discriminant Analysis (LDA), Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA) og Support Vector Machine (SVM)). PLS-DA ga best resultat, det ble derfor fokusert på denne metoden.

Først ble data fra hvert avstandsnivå analysert hver for seg, før robustheten til modellen ble vurdert ved å analysere data på modeller fra annen avstand.

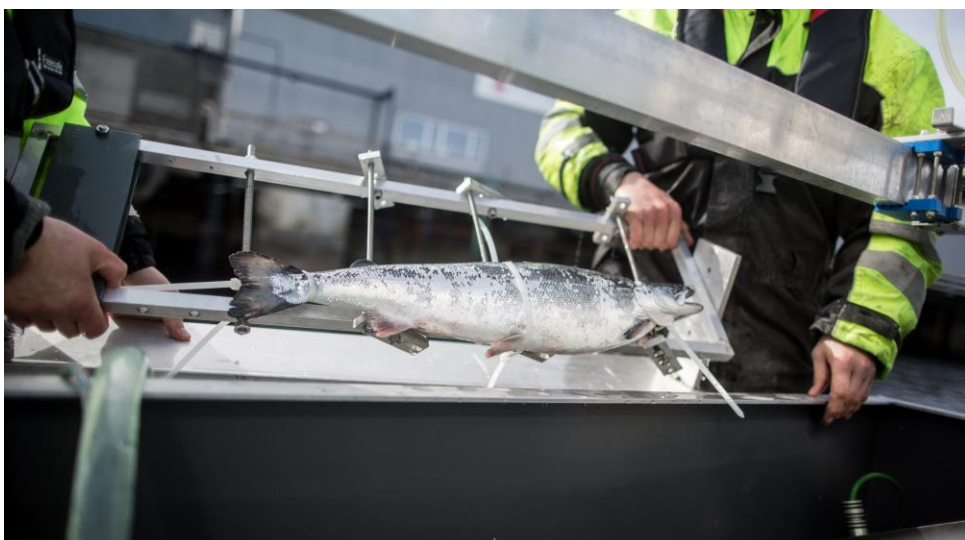
Figur 5 viser resultatet fra konstruksjonen av PLS-DA modeller for avstandene 15 cm (øverst), 20 cm (midten) og 30 cm (nederst). I alle tre avstandene grupperer spektrene fra kjønnsmodne hunnlus (rødt), kjønnsmodne hannlus (blått) og bevegelige lus (grønt) i klart separerbare klynger. Grafen til høyre i figuren viser valideringen av modellen. Valideringen er en iterativ prosess hvor tilfeldige lus blir holdt utenfor når modellen bygges, men inkluderes først etterpå. I figuren kan man se at den blå (modell) og røde (validering) kurva følger hverandre og er begge økende etter flere faktorer. Det betyr at modellen godt fanger opp variasjonen i dataene, og kan brukes til å klassifisere lus av ukjent type.



Figur 5. Resultater av prediksjonsberegning ved bruk av PLS-DA for 15 cm (øverst), 20 cm (midten) og 30 cm (nederst) avstand. 3D score plot til venstre og validering av modellen til høyre. Følgende farger er brukt: kjønnsmodne hunnlus – rødt, kjønnsmodne hannlus – blått og bevegelige lus – grønt. For valideringsplottet (til høyre) vises forklart varians i treningsdata og valideringsdata som henholdsvis blå og rød kurve.

3.3 Arbeidspakke 2 – Klassifisering av lus på laks

Feltarbeidet med avbildning av hel laks i vann ble gjennomført på ventemerdeanlegget til et slakteri i Midt-Norge. UHI med nødvendig utstyr, vannkar og rigg for avbildning, samt et spesiallaget stativ for å holde laksen, ble medbrakt fra Trondheim. I laksestativet kan laksen festes med strips og så roteres +/- 50 grader for å kunne avbilde ulike sider av fisken. Bildet i Figur 6 viser riggen med ferdig montert laks for avbildning.



Figur 6. Bilde fra feltforsøk. Laksen ble festet til en «lakseholder» før den ble senket ned i karet for avbildning.

3.3.1 Målinger

Laks ble hovet fra merda og avlivet ved slag mot hodet. For å minske arbeidet ble lusa lokalisert (Figur 7), slik at bare den siden av laksen (topp, bunn, høyre/venstre side) som hadde lus ble avbildet. Fisken ble festet på laksestativet og senket ned i vannet hvor UHI ble kjørt over laksen i en lineær bevegelse. Avstanden fra UHI til overflaten på laksen ble målt.

For å øke effektiviteten i avbildninga ble også lus høstet fra flere laks og overført på en laks. Dette gjorde arbeidet mer effektivt og det totale antall avbildet lus ble større. Antall lus i ulike stadier som ble avbildet i dette forsøket er oppsummert i Tabell 2.

Tabell 2. Antallet lus i ulike stadier som ble avbildet i dette forsøket.

Stadium	Antall lus identifisert av veterinær
Fastsittende	9
Bevegelige lus	52
Kjønnsmodne hannlus	27
Kjønnsmodne hunnlus	52



Figur 7. Telling og registrering av lus.

Basert på det lave antallet fastsittende lus som var tilgjengelig i dette forsøket (Tabell 2), ble det besluttet å avbilde flere laks med fastsittende lus. Dette ble gjort ved at laks med fastsittende lus ble slaktet og sendt til Ecotones kontor i Trondheim for avbildning. Gjennom dette ekstra forsøket ble det avbildet ytterligere 10 fastsittende lus på til sammen 7 laks.

3.3.2 Analysemetoder

Gjenkjenning av lakselus på en bakgrunn som ikke er uniform er mer krevende for analysemetodene. I forbindelse med arbeidspakke 2 måtte det derfor utvikles metoder for å utjevne den romlige forskjellen i spektral lysintensitet. Deler av laksen er spesielt blank og reflekterer mye lys, mens de øvre delene typisk er mye mørkere og gir mindre kontrast mellom lus og laks. Den blanke «metalliske» overflaten på skjellene til laksen gir også kraftige spekulære (speil-lignende) reflekser, noe som kan endre de reflekterte egenskapene noe.

Utgangspunktet for arbeidet i dette prosjektet var de analysemetodene som er etablert for kartlegging av biologi på havbunnen og som ble utviklet i første fase av studiet på lakselus. Disse baserer seg på metoden «Spectral Angle Mapper (SAM)» og PLS (Partial Least Squares) diskriminant analyse (Wegelin, 2000).

Det finnes noen elementer på fisken som spektralt ligner på lus. For å effektivt eliminere disse og unngå *falske positive klassifiseringer*, ble det etablert en firedeelt hierarkisk klassifiseringsprosess;

- (1) bestemme hvilke piksler som tilhører fisk og hvilke som tilhører bakgrunn (altså omrisset av fisken),
- (2) bestemme hvilke piksler på fisken som ligner spektralt på lus (dette kan være andre mørkere flekker, sår etc.),
- (3) bestemme hvilke av pikslene som ligner på lus som virkelig er lus og
- (4) bestemme stadiet til lusene.

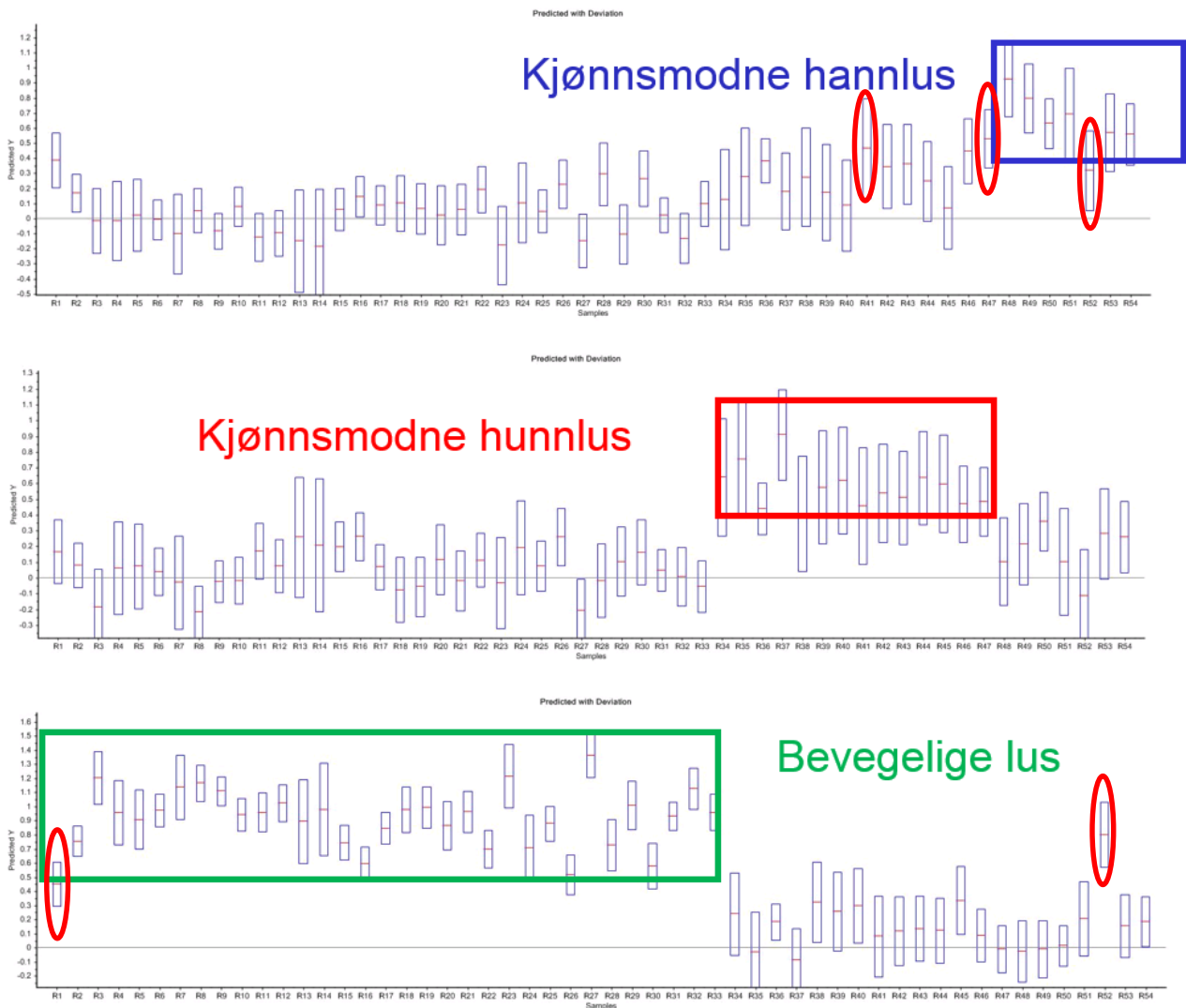
4 Resultater og diskusjon

I det følgende presenteres oppnådde resultater fra de to arbeidspakkene, samt en teknisk vurdering av disse.

4.1 Arbeidspakke 1 – Klassifisering av lus på nøytral bakgrunn

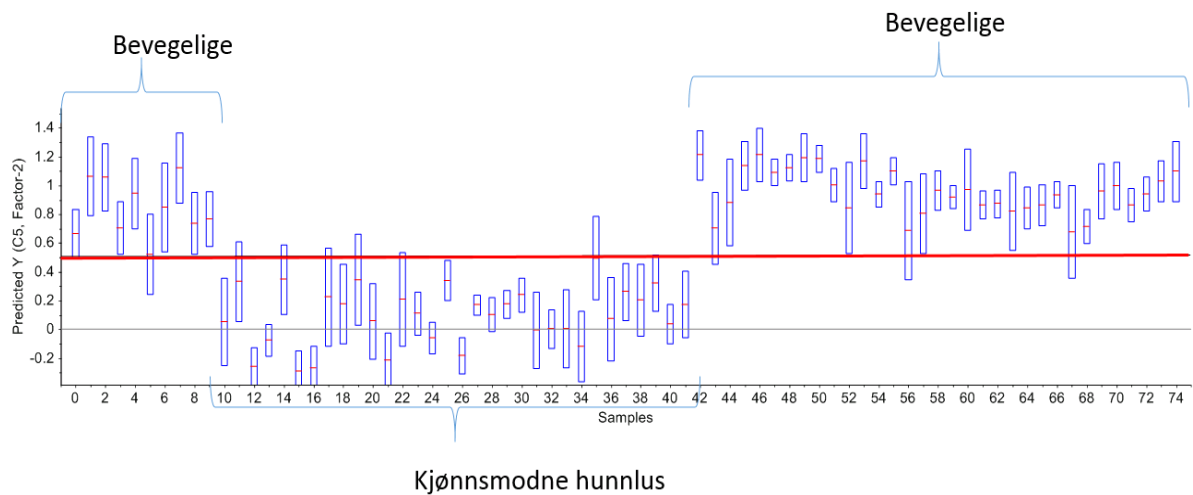
Det har blitt laget mange ulike modeller og kombinasjoner av modeller for det målte datasettet. Figur 8 viser prediksjon av lus hvor både modellen og prediksjonen er gjort for 20 cm avstand. Hvert punkt på x-aksen tilsvarer en prøve (lus). De er organisert slik at lusene som er merket med blått er kjønnsmodne hannlus, rødt er kjønnsmodne hunnlus, mens grønt er bevegelige lus. Resultatet er organisert slik at øverste linje er en prediksjon av kjønnsmodne hannlus, midterste linje er prediksjon av kjønnsmodne hunnlus og nederst er prediksjonen av bevegelige lus. Det er vanlig å sette prediksjongrensa på 0,5. Det betyr at dersom verdien på y-aksen er over 0,5 blir lusa klassifisert som den lusetyper modellen er representert. Dersom verdien er under 0,5 blir den ikke klassifisert som denne typen. Høyden på søylene i Figur 8 viser den statistiske variasjonen i klassifiseringen.

Modellen gir en meget god prediksjon, spesielt for bevegelige lus og kjønnsmodne hunnlus. Totalt ble 89 % av bevegelige lus klassifisert korrekt. Lus som ikke blir korrekt klassifisert er markert med røde ringer.



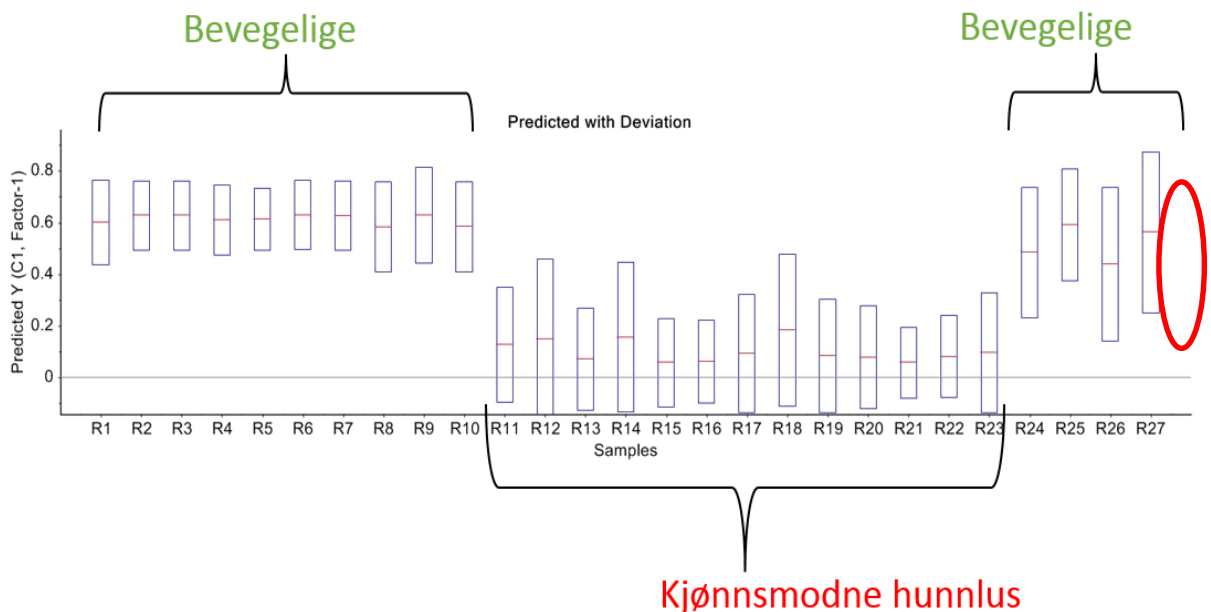
Figur 8. Prediksjon av lus målt på 20 cm med modell laget for 20 cm. Lus som er feilklassifisert er markert med røde ringer.

En sammenslåing av gruppene for voksne hannlus og andre bevegelige lus når man lager de statistiske modellene vil kunne gi en bedre presisjon. Figur 9 viser resultatet fra en slik modell og prediksjon for data fra 20 cm avstand både i modell og test-data. I dette tilfellet oppnår man 100 % korrekt prediksjon.



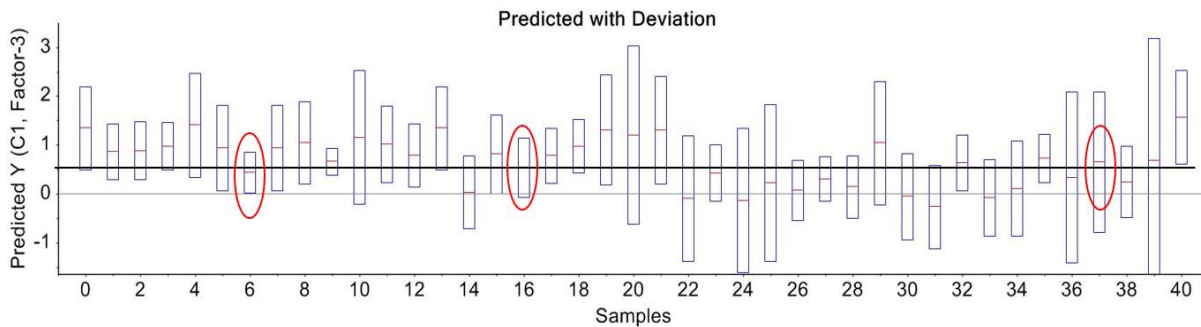
Figur 9. Kategorisering av lus målt på 20 cm med modell laget for 20 cm ved bruk av to klasser (bevegelige lus og kjønnsmodne hunn lus). Bevegelige lus har verdien $> 0,5$, mens hunn lus har verdien $< 0,5$. Alle lusene ble korrekt klassifisert.

For å undersøke robustheten i modellen er det interessant å undersøke om den greier å kategorisere og klassifisere riktig dersom nye data målt på en annen avstand predikeres inn i modellen. Dette viser noe om hvor sensitiv metoden er til den observerte endringen i relativ spektral intensitet som var illustrert i Figur 4. Et eksempel på et slikt resultat er vist i Figur 10. Modellen her er laget basert på data målt på 20 cm avstand, og dataene vist i figuren viser prediksjon for data målt på 15 cm. I modellen kategoriseres lusene inn i bevegelige stadier av lus og kjønnsmodne hunn lus. Av 27 lus er kun én klassifisert feil, dvs. en treffprosent på ca. 96 %. Dersom man bruker tre kategorier (bevegelige stadier av lus og kjønnsmodne hann- og hunn lus) oppnår man en treffprosent på 85 %.



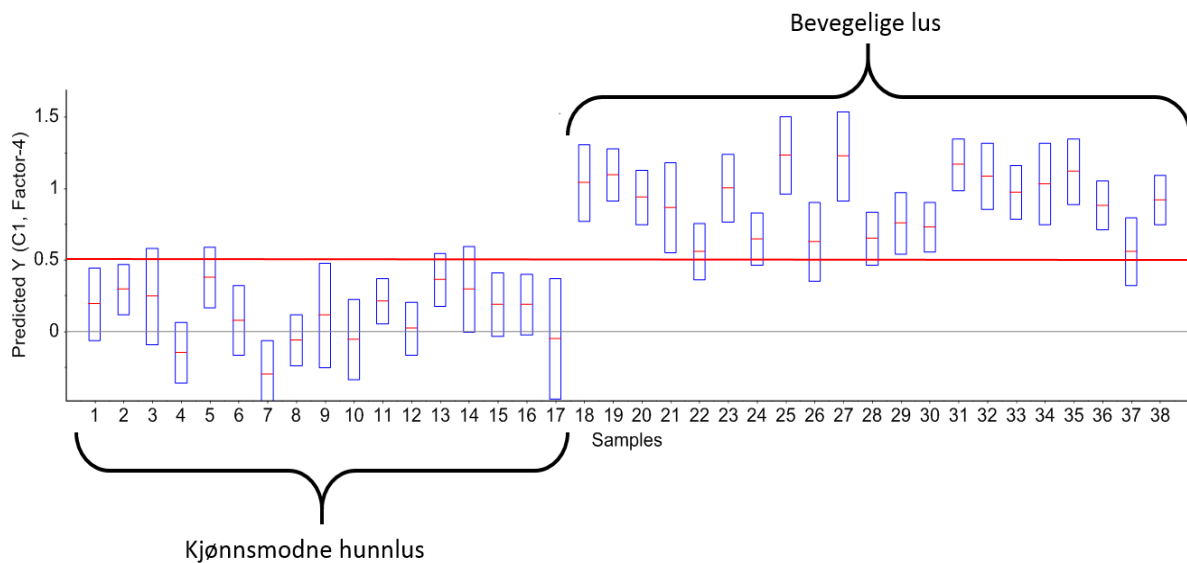
Figur 10. Prediksjon av lus målt på 15 cm i en modell for 20 cm. Den røde ringen markerer én lus som ikke er korrekt klassifisert.

Figur 11 viser prediksjon av lus målt på 15 cm avstand i en modell basert på data fra 30 cm. Her oppnås en prediksjonsnøyaktighet på 92.5 %.



Figur 11. For prediksjon av lus målt på 15 cm avstand i en modell for 30 cm oppnås en prediksjonsnøyaktighet på 92.5 %.

Figur 12 viser klassifisering av lus på 30 cm avstand for en modell laget på data fra 30 cm. Det gir 100 % korrekt klassifisering når det klassifiseres i to grupper. For tre grupper gir det en treffprosent på 94 %.



Figur 12. Prediksjon av lus målt på 30 cm for modell på 30 cm.

Resultatene over er oppsummert i Tabell 3. De viser en treffsikkerhet på 80 til 100 % avhengig av hvilke data som legges til grunn for modellen og hvilke data som testes. Det fremkommer at treffsikkerheten er høy, selv om avstanden er en annen enn det som er brukt for utvikling av modellen. Det betyr at modellen er robust nok til å håndtere unøyaktige kalibreringer for avstand. Resultatene blir likevel bedre dersom forskjellen mellom modell-avstand og test-avstand blir mindre (96 % og 85 % for 20 cm/15 cm, og 92.5 % og 80 % for 30 cm/15 cm).

Tabell 3. Oppsummering av resultatene vist i Figur 8 til 12. Prediksjonstreffsikkerheten er fra 100 % til 80 % avhengig av forskjellen i avstanden fra modell-data til test-data.

Modell-data (avstand)	Test-data (avstand)	Treffprosent 2 grupper	Treffprosent 3 grupper
20 cm	20 cm	100 %	89 %
20 cm	15 cm	96 %	85 %
30 cm	30 cm	100 %	94 %
30 cm	15 cm	92,5 %	80 %

Det ble undersøkt om det var et mønster i hvilke lus som ble feilklassifisert, og det viste seg at lus som var i nærheten av de hvite kantene som ble brukt som «innhegning» (se Figur 2 og Figur 3) oftere ble klassifisert feil. Dette kan skyldes lysrefleksjoner eller skygger som oppstod pga. kantene.

Det jobbes kontinuerlig med å forbedre avstandskorrekasjoner for UHI data. Dette vil forbedre resultatene for prediksjon når avstandsforskjellen i vannet er stor. Man vil også kunne kontinuerlig videreutvikle modellene basert på målte data.

4.2 Arbeidspakke 2 – Klassifisering av lus på laks

Arbeidspakke 1 viser at det er mulig å bestemme utviklingsstadiet til bevegelige stadier av lakselus basert på det hyperspektrale bildet målt under vann. Dette har i arbeidspakke 2 blitt overført til lus målt på laks. I feltforsøket ble det avbildet 17 fisk med totalt 48 bevegelige hannlus, 4 bevegelige hunnlus, 52 kjønnsmodne hannlus, 27 kjønnsmodne hunnlus og 9 fastsittende lus. Det ble også avbildet 10 fastsittende lus på laks i laboratoriet til Ecotone i Trondheim.

I forhold til arbeidspakke 1 har det blitt lagt til et viktig steg i klassifiseringen. Først må algoritmene ta stilling til hver enkelt piksel på laksen for å bestemme om dette faktisk er lus eller om det er øye, finne, gatt, sårskade, urenheter i vannet eller en hvilken som helst annen flekk på overflaten til fisken. Alle pikslene som klassifiseres som lus grupperes så som objekter. Fra objektene kan gjennomsnittsspekteret og andre parametere til lusa beregnes. Dette brukes videre for å klassifisere typen lus.

Den avlivede laksen ble festet til lakseholderen og senket ned i karet. For å undersøke påvirkning av avstand ble det målt i avstander på 20 – 30 cm. Videre vil det vises noen eksempler som illustrerer typiske målte data og stegene i klassifiseringen. Resultatene for alle fiskene, vist som prosentvis mengde lus på fisk som faktisk ble funnet og prosentvis korrekt klassifisering av lusetyper, oppsummeres i Tabell 4 og Tabell 5.

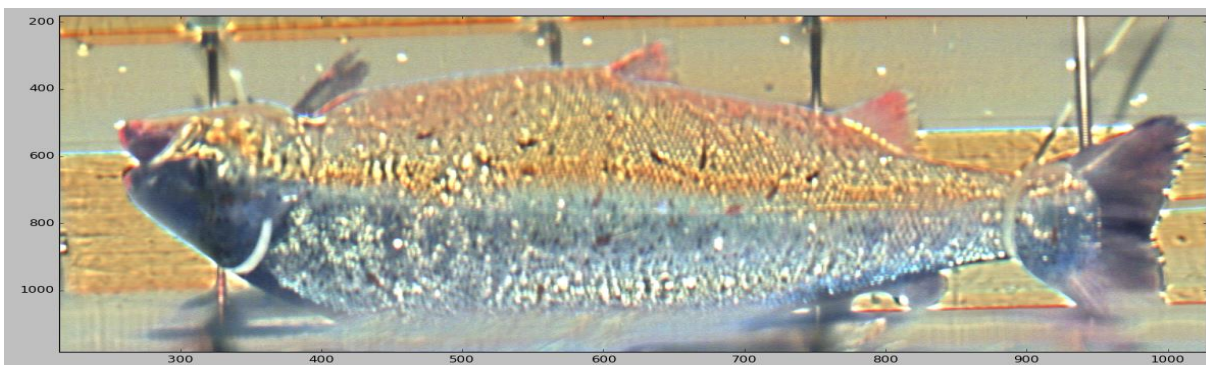
Figur 13 viser RGB bilde av rådata, hvor båndene 640, 534, 459 nm er brukt for å visualisere bildet. Det hyperspektrale kameraet har stor dynamisk intensitetsrekkevidde, og det ligger derfor mye informasjon i et bilde som ikke kan visualiseres uten å først gjøre prosessering. Figur 13 a viser rådata bildet, mens b viser en versjon av bildet med intensitets-strekk på 20 % (intensiteten i bildet er strukket slik at maksimal verdi er 80% av hele intensitetsrekkevidden i bildet). Dette gjør at man kan se detaljer på objektet som blir skjult av den store intensitetsforskjellen. Bildet i Figur 13 viser at intensiteten varierer mye over bildet. Årsaken

er en kombinasjon av lyssetting, geometrisk form og overflateegenskaper. Lyskildene er montert på linje med spalten som er kameraets synsfelt. Det vil da for enkelte objekt-geometrier gi en direkte refleksjon som blir mye sterkere enn den «normale» diffuse refleksjonen, tilsvarende som for refleksjon fra blits på vindu ved normal fotografering.



Figur 13. Rå-RGB-bilde av laks med lus. a) viser uten skalering, mens i b) er intensiteten skalert slik at kontrasten blir mer synlig på andre deler av fisken.

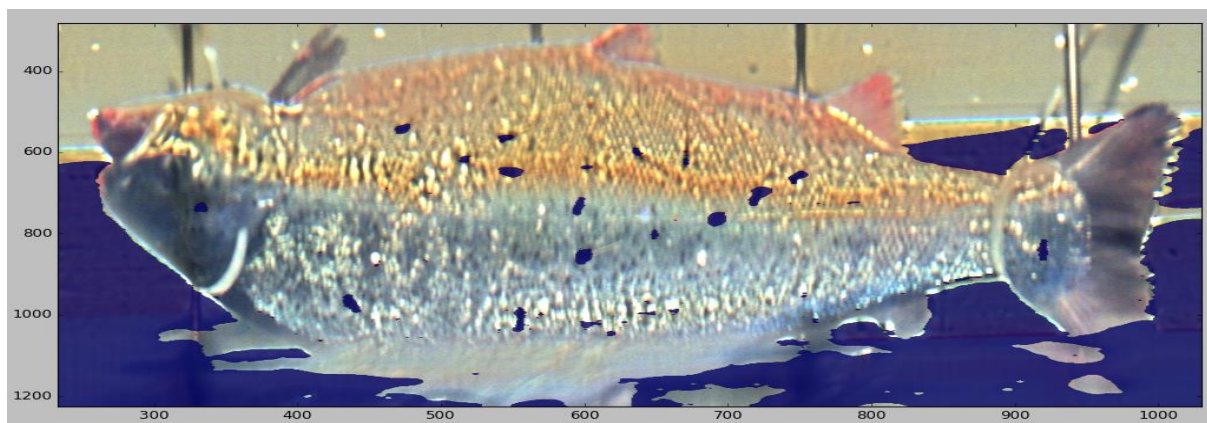
Dersom man har stor nok dynamisk rekkevidde kan intensitetsforskjellene kompenseres for ved å bruke et romlig høypassfilter. Figur 14 viser de samme data som i Figur 13, men skalert ved hjelp av et slikt filter. Denne typen filtrering gjør at man fjerner den globale intensitetsvariasjonen i bildet, mens man beholder den lokale variasjonen. Bildet viser nå mange detaljer på fisken, og flere områder viser tydelig lus.



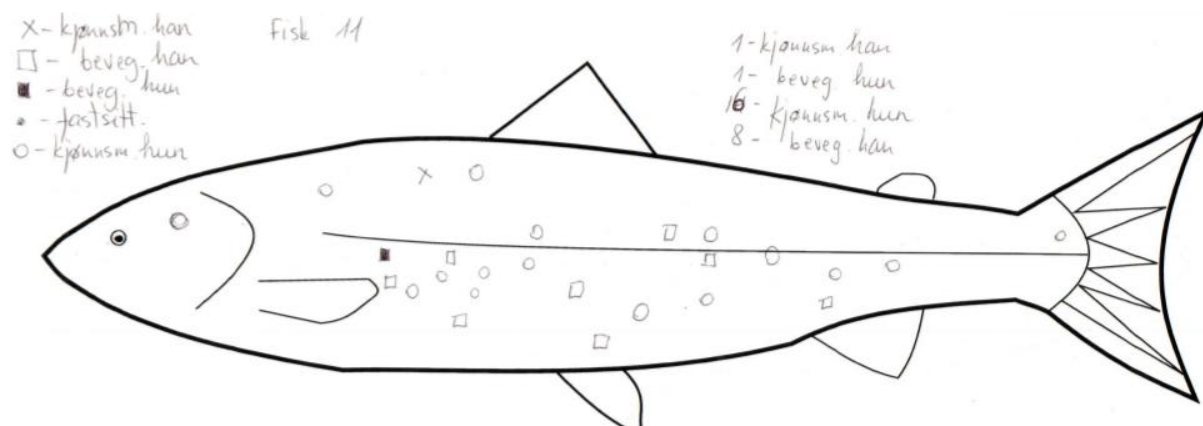
Figur 14. RGB-bilde av samme laks som i Figur 13 hvor dataene har gått igjennom et romlig høypassfilter. Filteret gir en effekt av økt lokal kontrast.

Når bildet har blitt korrigert for den globale intensitetsvariasjonen kan man begynne å klassifisere pikslene på fisken. Figur 15 viser et slikt bilde hvor områder som er klassifisert som

lus har blitt merket. Klassifiseringen baserer seg på PLS-DA. Sammenlignet med «bodymap/lusekartet» i Figur 16 viser det at de fleste lusene blir korrekt klassifisert.

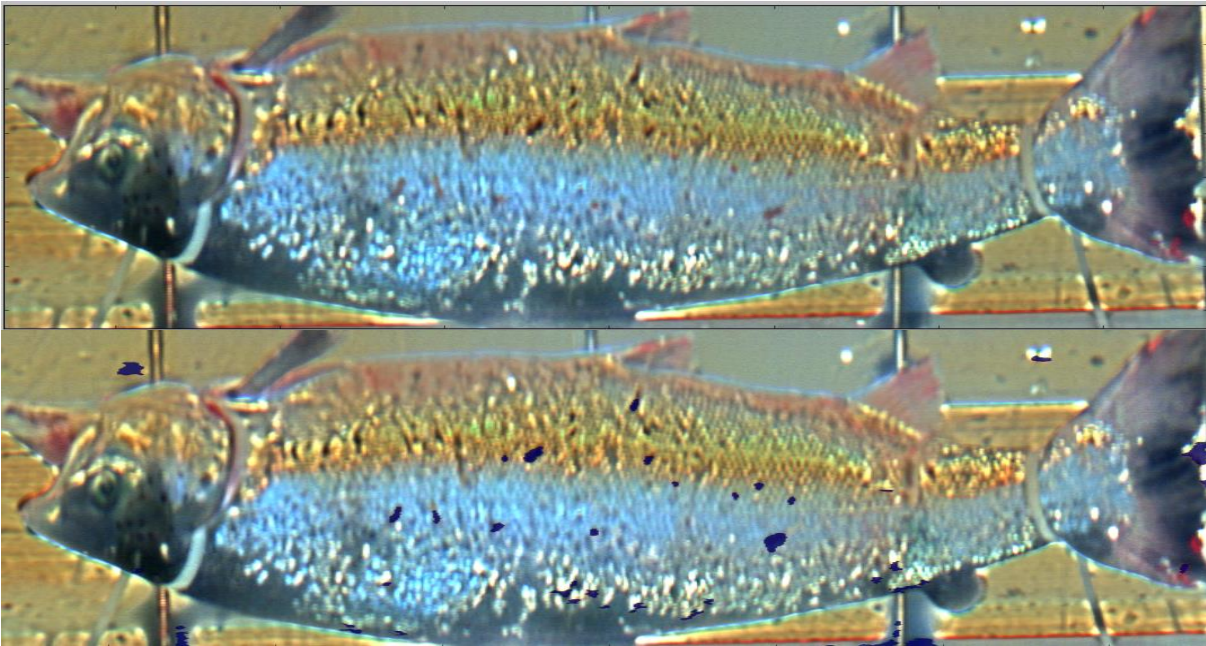


Figur 15. Samme bilde som i Figur 14 med identifisering av lus.

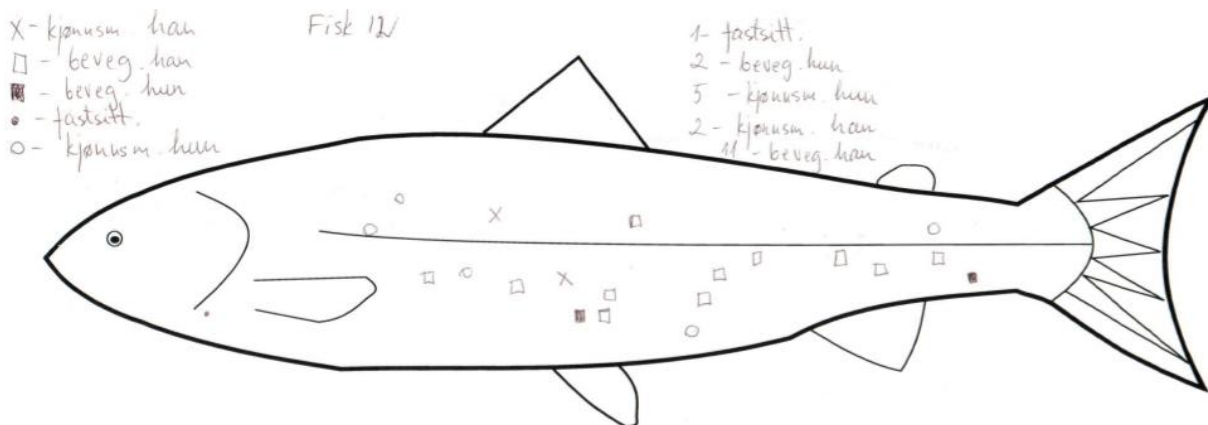


Figur 16. «Bodymap» over fisken vist i Figur 15, merket med lus og lusetype.

Lusene blir klassifisert på bakgrunn av referansespektre samlet inn på denne fisken. Det vil si at noen spektre blir hentet fra lus og noen fra ulike deler av bakgrunnen på fisken. Videre klassifiseres alle pikslene i bildet for å se om de tilhører lus eller bakgrunnen. Siden disse dataene er samlet inn på én fisk er det interessant å se om de kan brukes på en annen. I Figur 17 vises et eksempel på dette. Selv om modellen flyttes til en annen fisk blir de aller fleste lusene fremdeles identifisert. Figur 18 viser bodymap av fisken.

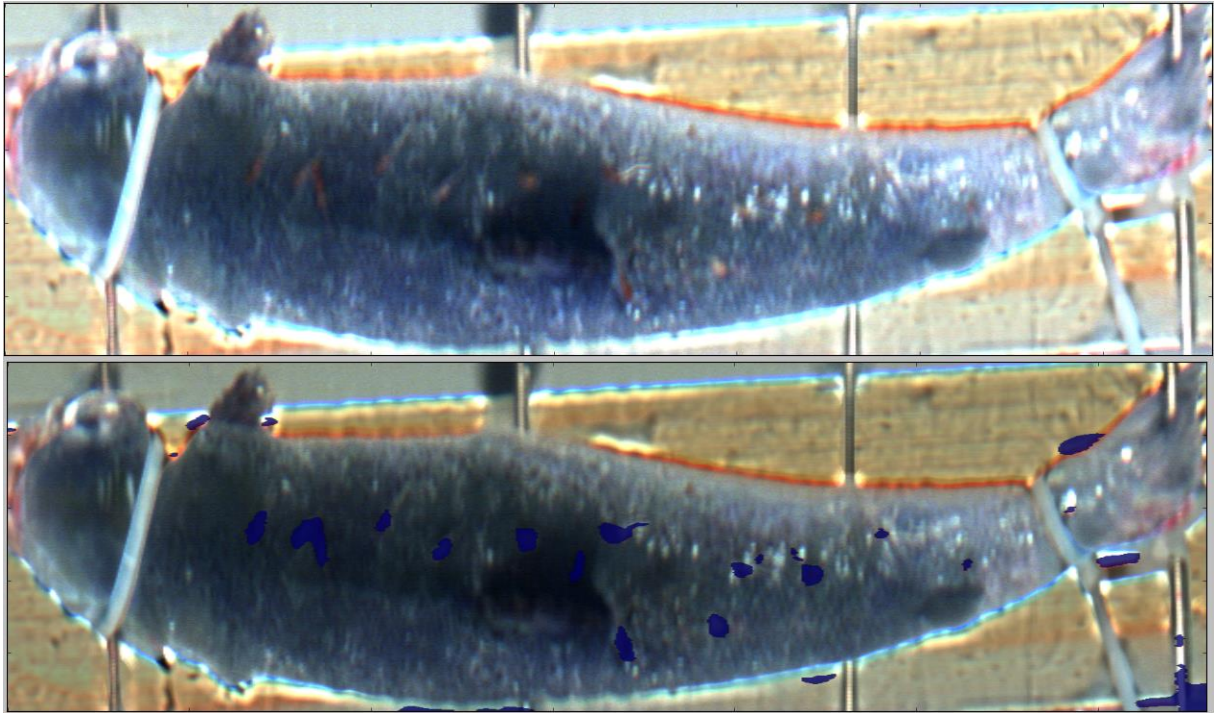


Figur 17. RGB-bilde av to ulike fisk med overlagt piksler klassifisert som lus.

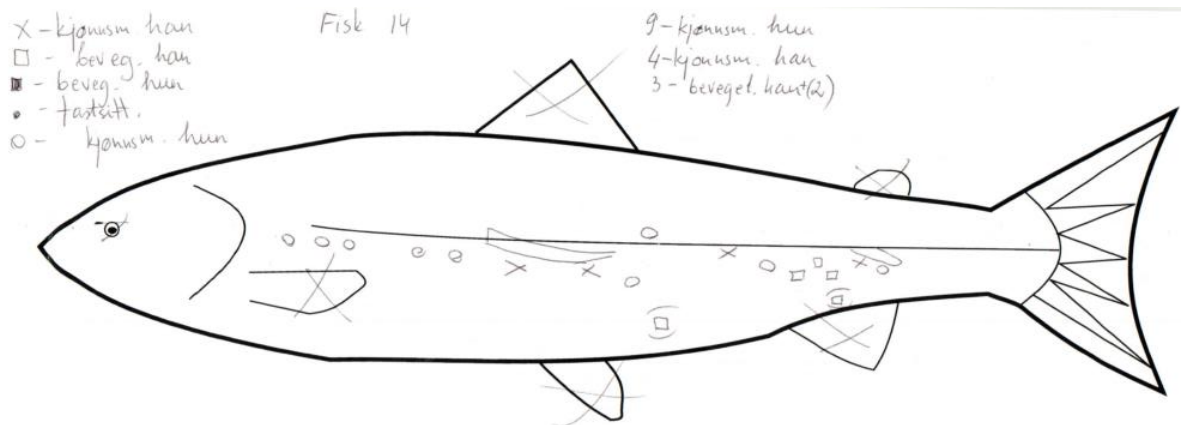


Figur 18. Bodymap av fisken i Figur 17.

Lakseskinnet har en relativt heterogen fargestruktur hvor hovedtrekkene er at den er lys på buken og mørk på toppen. Det er definitivt lettest for øyet å oppdage lusa når den sitter på buken, men et lusetelle-kamera må også kunne telle lus på ryggen av fisken, hvor kjønnsmodne hunnlus ofte sitter plassert. Figur 19 viser et romlig intensitets-filtrert RGB bilde av ryggen på en laks med totalt 18 lus, hvor 16 av lusene er på ryggen og antatt i synsfeltet til kameraet. Det klassifiserte bildet viser at 16 lus også blir korrekt identifisert. En sammenligning med bodymap i Figur 20 viser at dette er korrekt.



Figur 19. RGB-bilde av ryggen på en fisk.



Figur 20. Bodymap av fisken i Figur 19.

Tabell 4 viser sammenligning av identifiseringen av bevegelige lus på fem fisk med et ganske høyt antall lus (6 - 27 lus). Dette gir et relativt godt statistisk grunnlag, sammenlignet med fisk med få lus, når man sammenligner resultatene fra telling med UHI med resultater fra telling av veterinær. Gjennomsnittlig blir 82 % av lusene identifisert. Resultatet varierer noe mellom de ulike fiskene, noe som trolig skyldes variasjon i plasseringen på fisken. For eksempel har fisk nr 3 i tabellen lavere identifiseringsgrad. Den viser også en større variasjon i plasseringen til lusa.

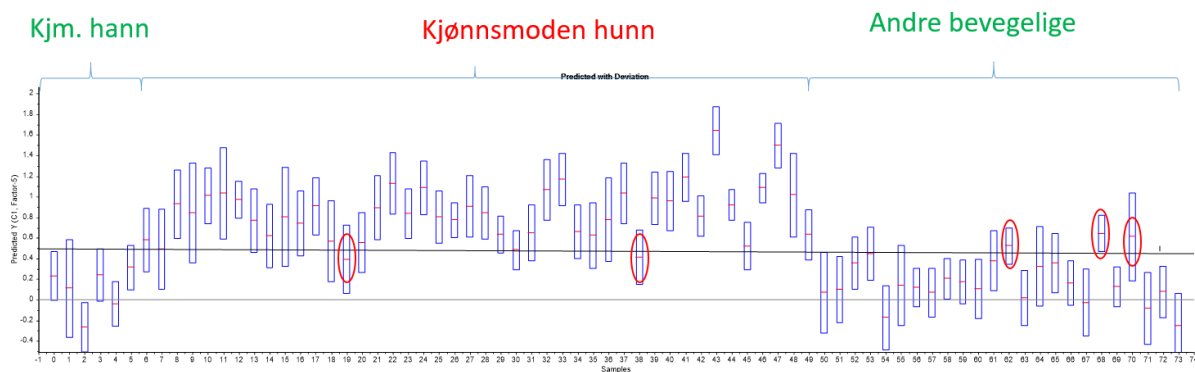
Det er ikke godt nok grunnlag for å si om lusestadiet påvirker identifiseringsgraden så lenge lusa er stor nok og kameraet har fri sikt til lusa. Problem med identifisering oppstår når størrelsen til lusa er mindre enn en terskel, identifisert som i området rundt overgangen mellom fastsittende og bevegelige.

Tabell 4. Resultater fra identifisering av lus i bevegelige stadier på fisk, med oversikt over treffprosent og antall falske positive.

Fisk nr	Antall lus identifisert av veterinær	Antall lus identifisert av UHI	I prosent	Antall falske positive
1	6	5	83 %	1
2	16	16	100 %	1
3	27	18	67 %	0
4	20	17	85 %	1
5	20	17	85 %	3

4.2.1 Klassifisering av lus i ulike stadier på laks

Etter identifikasjonen av lus på laksen er neste steg å bestemme stadiet til den identifiserte lusa. Dette ble gjort på samme måte som beskrevet for Arbeidspakke 1. Lusa ble, som i AP 1, klassifisert i både to og tre grupper, kjønnsmoden hunn og andre bevegelige, og kjønnsmoden hunn, kjønnsmoden hann og andre bevegelige. Figur 21 og Figur 22 viser resultatet fra denne klassifiseringen. Av totalt 74 lus ble 5 feilklassifisert ved inndeling i to grupper (Figur 21), og 11 klassifisert feil ved inndeling i tre grupper (Figur 22). Det gir en prediksjonstreffsikkerhet på 93 % og 85 % (Tabell 5).

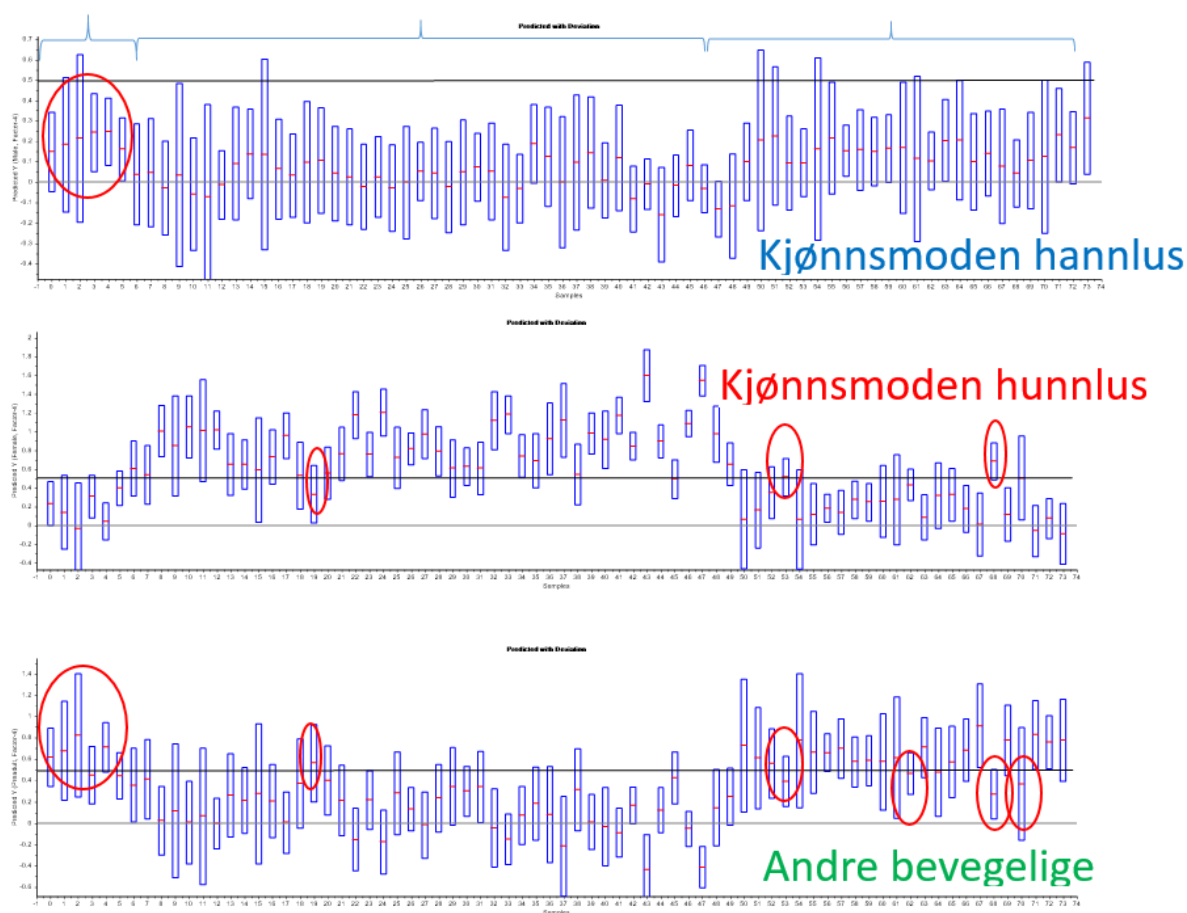


Figur 21. Ved klassifisering i to grupper ble 93 % korrekt klassifisert. De røde ringene viser lus som ikke ble korrekt klassifisert. Det er to kjønnsmodne hunnlus som blir klassifisert som bevegelige, og det er tre bevegelige som blir klassifisert som kjønnsmodne hunnlus.

Kjm. hannlus

Kjm. hunnlus

Bevegelige



Figur 22. Ved klassifisering i tre grupper ble 85 % korrekt klassifisert.

Tabell 5. Oppsummering av resultatene for klassifisering av bevegelige lusetyper på laks. Prediksjonstreffsikkerheten er fra 93 % til 85 %, avhengig av om man klassifiserer i tre eller to grupper.

	2 grupper	3 grupper
Antall lus	74	74
Korrekt utviklingsstadie	69 (93 %)	63 (85 %)
Prosent korrekt kjønnsmoden hunnlus	95 %	98 %
Prosent korrekt bevegelig	90 %	83 %
Andel korrekt kjønnsmoden hannlus		0 %

4.2.2 Fastsittende lus

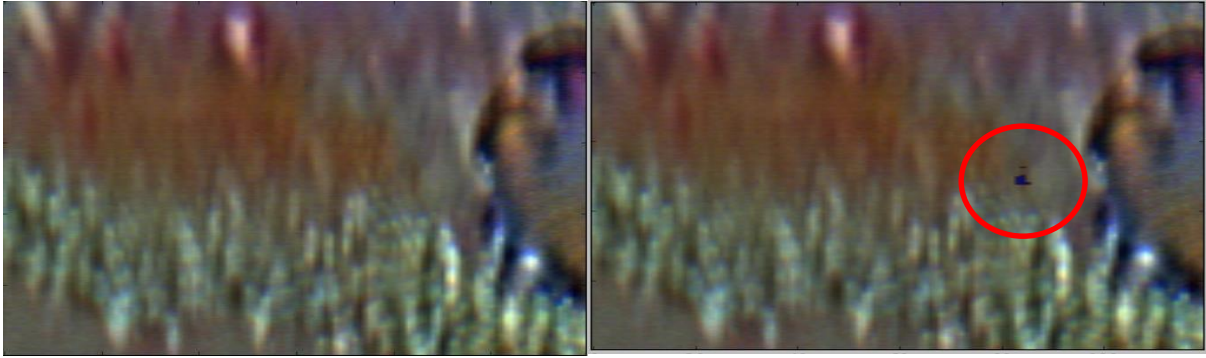
Det er funnet at UHI kan skille den spektrale signaturen til fastsittende lus fra den spektrale signaturen til de bevegelige stadiene av lus. Resultatene viser at det målte midlere spekteret og andre parametre vil være betydelig forskjellig fra de større lusetyperne. Det betyr at dersom man først har identifisert lusa med UHI-kamera, vil den med stor sikkerhet kunne klassifiseres.

Utfordringen med dagens kamera er imidlertid å detektere den fastsittende lusa på laksen. Figur 23 og Figur 24 viser et eksempel hvor en fastsittende lus blir identifisert. Av totalt 19 fastsittende lus kunne 2 bli identifisert ved hjelp av UHI. Årsaken til at UHI har problemer med å detektere lusa på laksen er den romlige oppløsningen i lengderetningen av laksen. Spaltebredden i kameraet som har blitt brukt har vært 80 μm , noe som med linsa som er i bruk i beste fall gir en romlig oppløsning på ca. 2,5 mm på 25 cm avstand. Ved å endre spaltebredda til f.eks. 30 μm vil oppløsningen kunne bli forbedret med en faktor på 2,7 til 0,9 mm. Det er heller ikke noe i veien for å redusere den ytterlig til f.eks. 10 μm , som vil gi en mulig romlig oppløsning på 0,31 mm. Ulempen med å redusere spaltebredden er at mindre lys slipper inn på detektoren, noe som fører til at man trenger kraftigere lyskilder. Lysene som ble brukt i dette forsøket overstiger den terskelverdien som er satt på en avstand av 1 m fra lyskilden for å ha påvirkning på melatonin-nivået hos laksen. En framtidig lyskilde må ta hensyn til spektral sammensetning samt styrken av lysene som brukes for å unngå de mest sensitive spektrale områdene til laksen dersom sterkere lys er nødvendig (Vedlegg 1). Faktisk romlig oppløsning i andre retningen, på tvers av fisken, er bedre enn 1 mm på 25 cm avstand.

På grunn av utfordringene med å detektere de fastsittende luse ble det i dette studiet ikke et godt nok statistisk grunnlag for å undersøke om en klassifisering av lusestadiet til de fastsittende lusene er oppnåelig.



Figur 23. UHI-RGB bilde av undersiden av fisk med fastsittende lus. Den røde boksen viser utsnittet gjort i Figur 24.



Figur 24. UHI-RGB bilde av utsnitt av fisken i Figur 23, med overlagt identifisert fastsittende lus til høyre (rød ring).

5 Konklusjon og fremtidsperspektiver

I dette prosjektet er det vist at dagens UHI er i stand til å gjenkjenne og klassifisere lakselus under vann, både på en nøytral bakgrunn og når den sitter på laks. Metoden klassifiserer lusa i riktig stadium i rundt 90 % av tilfellene for bevegelige lus og kjønnsmodne hunnlus når de sitter på en laks, mens på nøytral bakgrunn er treffprosenten noe høyere. De minste stadiene av fastsittende lus har vist seg å være en utfordring å detektere med den optikken som brukes i dag, men det er fullt mulig å endre på optikken til å gi en bedre oppløsning slik at en fremtidig løsning kan detektere mindre lus enn det som er vist i dette prosjektet. Optikken som brukes i dag er ikke utviklet eller optimalisert for å kunne se svært små objekter. Den er derimot laget for å slippe inn mye lys, noe som går på bekostning av oppløsningen til systemet.

Det er vist at man kan lage en modell basert på en eller flere fisk med lus, og deretter bruke denne modellen til å gjenkjenne andre lus på andre fisk. Dette indikerer at det er mulig å lage et system som automatisk gjenkjenner lus på fisk som ikke har vært en del av grunnlaget for modellen.

Teknologien og utstyret slik det foreligger i dag kan ikke direkte brukes til å telle totalt antall lus på en spesifikk fisk. Teknologien kan derimot brukes til å si noe om endringer og trender i totalt antall lus. Utstyret vil kunne utføre kontinuerlige eller hyppigere tellinger på et større antall fisk enn de manuelle tellinger næringen utfører i dag, og man vil kunne få et bedre statistisk grunnlag for å vurdere lusesituasjonen enn det manuelle tellingen gir. Tendenser til økning i lusenivå vil også umiddelbart fanges opp. Dette vil være gunstig i perioder av året hvor luseutviklingen går raskt samtidig som smittepresset øker. Travle perioder på året vil ofte sammenfalle med høy sjøtemperatur og risikoperioder for lusekontroll. Overvåkning av lusenivå ved hjelp av UHI vil derfor kunne utgjøre en ekstra kapasitet og sikkerhet her.

Nytteverdien av UHI vil, basert på nåværende resultater, ligge i tidlig og kontinuerlig registrering av lusenivå, i at lusetelling kan utføres uten håndtering av fisken og at den vil gi et bedre statistisk grunnlag. Utvikling av et UHI-basert system med automatisert telling og klassifisering av lus på svømmende laks, vil potensielt kunne erstatte dagens krav om manuell telling i luft.

I et videre utviklingsprosjekt må det etableres enda mer kunnskap om sammenheng mellom resultater fra bruk av UHI og resultater fra telling av lus av kompetent personell.

Det er ikke konkludert med hvor stor andel av det totale lusetallet på en laks en kan detektere med UHI. Det anbefales at et videre arbeid adresserer forskjell i nøyaktighet og nytte ved ulike plasseringer av kamera, dvs. om kamera filmer laks nedenfra, fra siden eller ovenfra. I tillegg bør optikken i det hyperspektrale kameraet optimaliseres for lakselus-telling slik at mindre lusestadier kan klassifiseres med høy presisjon.

Ved eventuell implementering av utstyr til UHI-avbildning i en merd må det også tas forholdsregler til hvilket lys som brukes og når det brukes for å hindre uønsket tidlig kjønnsmodning av laks. Siden laksen er positivt fototaktisk vil en eventuell introdusert lyskilde potensielt føre til ansamling av laks rundt lyskilden. I verste fall kan en stor laksetetthet i nærheten av UHI-kamera for avbildning vanskeliggjøre avbildningsmulighetene.

Som en sideaktivitet ble det også undersøkt om resultatene blir påvirket av skottelus. Resultatene viser at UHI kan skille skottelus fra lakselus med meget stor treffsikkerhet (vedlegg 2).

Litteratur

- Cheng, C.L., Flamarique, I.N., Hárosi, F.I., Rickers-Haunerland, J., Haunerland, N.H., 2006. Photoreceptor layer of salmonid fishes: transformation and loss of single cones in juvenile fish. *J. Comp. Neurol.* 495, 213–235.
- Dempster, T., Korsøyen, Ø., Folkedal, O., Juell, J.-E., Oppedal, F., 2009. Submergence of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in commercial scale sea-cages: A potential short-term solution to poor surface conditions. *Aquaculture* 288, 254–263.
- Frenzl, B., Stien, L-H., Cockerill, C., Oppedal, B., Richards, A.P., Shinn, A., Brona, J.E., Migauda, H., 2014. Manipulation of farmed Atlantic salmon swimming behaviour through the adjustment of lighting and feeding regimes as a tool for salmon lice control. *Aquaculture* 424–425, 183–188.
- Føre, M., Dempster, T., Alfredsen, J.A., Oppedal, F., 2013. Modelling of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) behaviour in sea-cages: using artificial light to control swimming depth. *Aquaculture* 388–391, 137–146.
- Gillibrand, P.A., Willis, K.J., 2007. Dispersal of sea louse larvae from salmon farms: modelling the influence of environmental conditions and larval behaviour. *Aquatic biology*. Vol. 1: 63–75.
- Hansen, T., Stefansson, S., Taranger, G.L., 1992. Growth and sexual maturation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., reared in sea cages at two different light regimes. *Aquaculture Research*, Vol 23, 275–280.
- Jones, S., Johnson, S., 2014. Biology of sea lice, *Lepeophtheirus salmonis* and *Caligus spp.*, in western and eastern Canada. Canadian Science Advisory Secretariat (CSAS) Research Document 2014/019
- Juell, J.-E., Oppedal, F., Boxaspen, K., Taranger, G.L., 2003. Submerged light increases swimming depth and reduces fish density of Atlantic salmon *Salmo salar* L. in production cages. *Aquac. Res.* 34, 469–477.
- Juell, J.-E., Fosseidengen, J.E., 2004. Use of artificial light to control swimming depth and fish density of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in production cages. *Aquaculture* 233, 269–282.
- Leclercq, E., Taylor, J.F., Sprague, M., Migaud, H., 2011. The potential of alternative lighting-systems to suppress pre-harvest sexual maturation of 1 + Atlantic salmon (*Salmo salar*) post-smolts reared in commercial sea-cages. *Aquacult. Eng.* 44, 35–47.
- Luseforskriften (2012). Forskrift om bekjempelse av lakselus i akvakulturanlegg. Hentet fra <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2012-12-05-1140>
- Oppedal, F., Taranger, G.L., Juell, J.-E., Fosseidengen, J.E., Hansen, T., 1997. Light intensity affects growth and sexual maturation of Atlantic salmon (*Salmo salar*) postsmolts in sea cages. *Aquat. Living Resour.* 10, 351–357.
- Oppedal, F., Berg, A., Olsen, R.E., Taranger, G.L., Hansen, T., 2006. Photoperiod in seawater influence seasonal growth and chemical composition in autumn sea-transferred Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) given two vaccines. *Aquaculture* 254, 396–410.

- Oppedal, F., Juell, J.-E., Johansson, D., 2007. Thermo- and photoregulatory swimming behaviour of caged Atlantic salmon: implications for photoperiod management and fish welfare. *Aquaculture* 265, 70–81
- Oppedal, F., Dempster, T., Stien, L.H., 2011. Environmental drivers of Atlantic salmon behaviour in sea-cages: a review. *Aquaculture* 311, 1–18.
- Porter, M.J.R., Duncan, N.J., Mitchell, D., Bromage, N.R., 1999. The use of cage lighting to reduce plasma melatonin in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and its effect on the inhibition of grilising. *Aquaculture* 176, 237-244.
- Stien, L.H, Fosseidengen, J.E., Malm, M.E., Sveier, H., Torgersen, T., Wright, D.W., Oppedal, F., 2014. Low intensity light of different colours modifies Atlantic salmon depth use. *Aquacultural Engineering* 62, 42–48.
- Sevatdal, S., 2011. Følsomhet hos lakselus, standardisering og kvalitetssikring av bioassay. Veso Oslo, Sluttrapport Oppdrag 1768.
- Sæther, K., Westgård, A., Tegdan, J., Sandvik Aas, L.M., 2015. Klassifisering og telling av lakselus. Akvaplan-niva rapport nr / report no 7415
- Taranger, G.L., Haux, C., Stefansson, S.O., Björnsson, B.T., Walther, B.T., Hansen, T., 1998. Abrupt changes in photoperiod affect age at maturity, timing of ovulation and plasma testosterone and oestradiol-17_β-profiles in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 162, 85-98.
- Wegelin, J.A., 2000. A survey of Partial Least Squares (PLS) methods, with emphasis on the two-block case. Technical Report 371, Department of Statistics, University of Washington, Seattle, 2000.

Vedlegg 1

Litteraturstudium: Lys og lakseadferd

Faren for påslag av lakselus er størst og forekommer mest mellom 0 og 4 m dybde. Med dette som bakgrunn har det blitt utviklet forskjellige strategier for enten å holde lusa unna laksen eller laksen unna lusa. Det er to nøkkelparametere som avgjør laksens vertikale posisjon i vannet, temperatur og naturlig lys, og forskning viser at temperaturen til en viss grad overstyrer lyset. Siden laksen trenger synet til å fange mat vil den trekke mot lys og lyskilder, dvs. at den er positivt fototaktisk (Dempster et al., 2009, Juell and Fosseidengen, 2004, Juell et al., 2003, Oppedal et al., 2007, Frenzl et al., 2014). Typisk dagsrytme hos laks er å svømme dypt på dagtid når det er lysest for så å svømme oppover nærmere overflaten når lyset minker og det går mot kveld (Oppedal et al., 2011, Førre et al., 2013). Laksen vil oppsøke en eventuell lyskilde for å kunne finne mat og opprettholde foretrukket svømmemønster (schooling), og til det trenger de synet for kontinuerlig å oppdatere svømmemønsteret i forhold til resten av flokken (Juell og Fosseidengen, 2004)

Lakselusa har en begrenset evne til å bevege seg i vannmassene og blir hovedsakelig spredd med havstrømmene. Det er flere faktorer rundt bevegelsene av luselarvene som ikke er kjent, men flere forskningsprosjekter tilsier at luselarvene fortrinnsvis forekommer i de øverste vannmassene. En teori er at lusa utfører vertikalmigreringer i de øvre vannmassene, og en annen er at det er strøm og bølger som gjør at larvene passivt endrer vertikal posisjon (Gillibrand og Willis, 2007). Teorien er at lusa finner sin vert enten ved kjemosensorisk lukt eller på grunn av mekaniske vibrasjoner i vannet når laksen er i bevegelse (Jones og Johnsen, 2014).

Det er i tiden laksen oppholder seg i de øverste vannmassene under mørket at lusepåslag er mest forekommende. Det har derfor blitt gjort forsøk med å lokke laksen med lys ned på dagsvømmedybde (under 4 m) for å minske lusepåslag. I et studie av Stien et al. (2014) har lys med ulike farger (hvitt, UV, blått, grønt, gult rødt og dyp rødt) og intensitet (0,01 - 10 μ E (micro Einstein)) blitt plassert på 10 m dyp for å se om de kan tiltrekke seg laksen når det ikke er noe omgivende lys. Det viste seg at alle fargene, med unntak av dyp rødt, innvirket på svømmedybden til laksen om natten, med mest effekt ved lavere bølgelengder.

Temperaturstratifisering styrket lyseffekten når det var varmest på lysdybden og svekket effekten når vanntemperaturen var varmest nærmere overflaten. Jo høyere intensitet på lyset var jo sterkere var virkningen, og lys helt ned på 0,1 μ E viste seg å ha innvirkning på svømmedybden.

Atlantisk laks har fotoreseptorer for UV, blått, grønt og rødt med absorpsjonstopper på 361, 435, 518 og 578 nm (Cheng et al., 2006). Det vil si at laksens øye har reseptorer for dyp røde bølgelengder (rundt 660 nm), men de er i den øvre grense for sensitivitet (Cheng et al., 2006). Atlantisk laks har også reseptorer for UV lys, men mest sannsynlig mister voksen laks disse og derfor er det begrenset sensitivitet for UV lys hos voksen laks.

Ukritisk lysbruk i merder med laks kan føre til uønsket kjønnsmodning som reduserer kvaliteten på produktet. Lysbruken må derfor reguleres i forhold til årstiden. Anti-modning lys er høyintensivt hvitt lys som ofte brukes av industrien midtvinters ved økende daglengde over 4-6 måneder for å redusere eller forhindre kjønnsmodning som igjen er relatert til melatonin-nivået hos fisken (Hansen et al., 1992; Taranger et al., 1998; Porter et al., 1999; Oppedal et al., 1997, 2006). Lyset lurer fisken til å tro at våren er forbigått og tiden for kjønnsmodning er for kort til å gjennomføre en suksessfull reproduksjon denne sesongen. Lys på lave bølgelengder

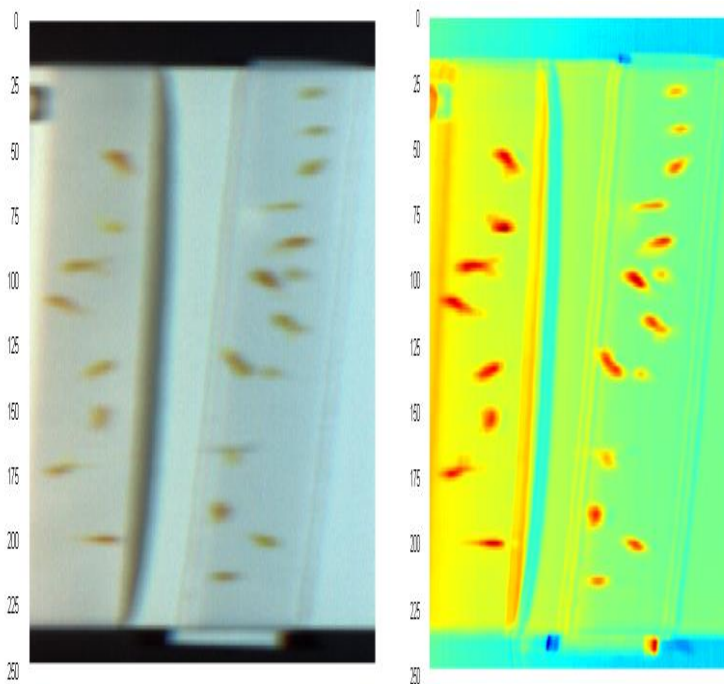
(450-550 nm) er mest effektivt til å undertrykke sesongvariasjon i melatonin (Stien et al., 2014). Dersom lysene brukes ved synkende daglengde kan de virke motsatt og stimulere til uønsket kjønnsmodning. Leclercq et al. (2011) fant en minimumsgrense på 0,06 μE ($0,012 \text{ W m}^{-2}$) for lys til å holde melatonin-nivået stabilt og dermed undertrykke kjønnsmodning. På bakgrunn av disse data må en kunne anta at dette også er en terskelverdi ved synkende daglengde for å unngå uønsket for tidlig kjønnsmodning – altså burde en ikke bruke lys med intensitet over 0,06 μE ved synkende daglengde.

Vedlegg 2

Undersøkelse av skottelus

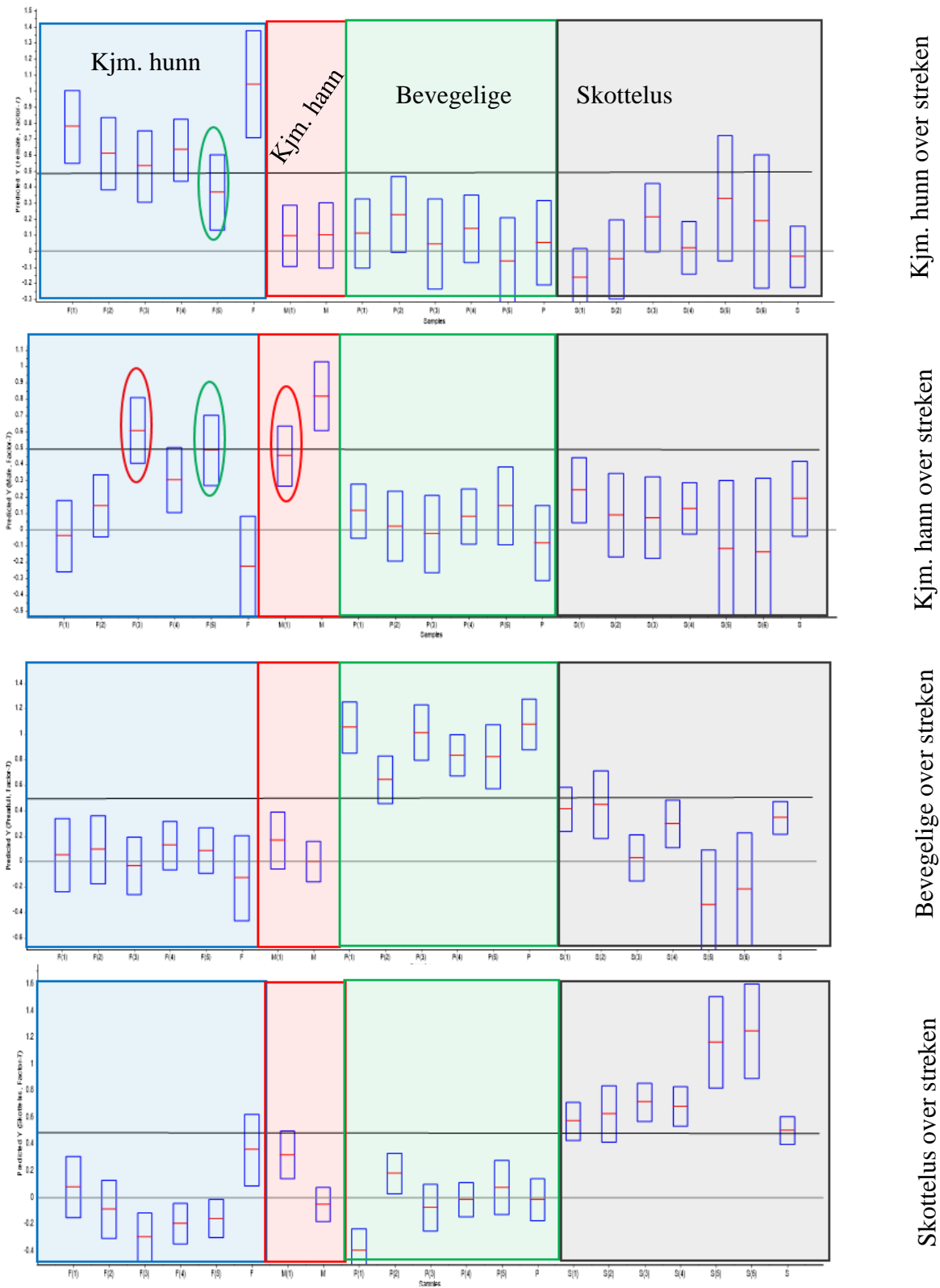
I norsk oppdrett finnes det også andre luse-arter enn lakselus. En av disse er skottelus. I forprosjektet ble skottelus diskutert som en mulig feilkilde i et automatisert lakselustellingssystem. Det ble i ikke hentet inn skottelus i forprosjektet, og det lå i utgangspunktet ikke i planene for prosjektet som rapporteres her, men det er likevel en usikkerhet som må besvares. Mot slutten av inneværende prosjektperiode åpnet det seg en mulighet for å få levert skottelus for UHI-avbildning.

Lusene ble samlet på en lokalitet i Nord-Norge, og sendt med ekspress-flyfrakt til Trondheim. Det var totalt 30 lus, av dem var 22 levende. Avbildningen foregikk i stor grad som i arbeidspakke 1, altså på nøytral bakgrunn. Lusene ble plassert på bunnen av avbildningskaret før avbildning på 25 cm avstand. Figur 25 viser RGB bilde og et intensitetsbilde av første komponent i en PCA-modell.



Figur 25 Skottelus RGB-bilde og intensitetsbilde av første komponent i en PCA-modell.

Videre er det gjort en sammenligning mellom skottelus og bevegelige lakselus-stadier. Figur 26 viser denne klassifiseringen. To tredeler av lusene er brukt til kalibrering av modellen, mens den siste tredelen av dataene er brukt til å validere modellen. Figuren viser kun data brukt til validering. Av totalt 21 lus i ulike stadier (6 kjønnsmodne hunnlakselus, 2 kjønnsmodne hannlakselus, 6 bevegelige lakselus og 7 skottelus) ble 18 lus korrekt klassifisert, en feilklassifisert, og to ikke klassifisert i noen av gruppene. Alle skottelus ble korrekt klassifisert. Det gir en klassifiseringssikkerhet på 100 % for skottelus, og > 90 % på alle stadiene.



Figur 26 Klassifisering av lakselustyper og skottelus gir 100 % korrekt klassifisering av skottelus, og >90 % korrekt klassifisering totalt.