

Sterilisering av luseegg i sjøen

Er det mulig å benytte seg av UV-lys for å ta livet av luseegg? Det spørsmålet ville forskere fra Havforskningsinstituttet og Universitetet i Melbourne finne ut av.

Frode Oppedal¹, Samantha Bui¹ Luke Barrett², Tim Dempster² og Cassie Pert². ¹Havforskningsinstituttet, ²Universitetet i Melbourne. FrodeO@hi.no

Lakselus med tydelig skade fra UVC lys og etterfølgende skrubbede atferd mot karbunn. Foto: Luke Barrett, Universitetet i Melbourne.

Oppsummering

Alle forsøkene ble utført på Havforskningsinstituttets forsøksstasjon i Matre. Eksperiment 1 ble gjennomført i november-desember 2017, eksperiment 2 i mars-mai 2018 og eksperiment 3 i mars-april 2019.

Rapporten er skrevet av Samantha Bui og Frode Oppedal fra Havforskningsinstituttet, sammen med Luke Barrett, Tim Dempster og Cassie Pert fra Universitetet i Melbourne.

Scan QR-koden for å laste ned rapporten



Behandlinger med ultrafiolett lys (UV) kan ha potensial til å redusere veksten i lusepopulasjonen, enten ved å forårsake direkte dødelighet av lus som sitter på laksen, eller ved å uskadeliggjøre luseegg eller -larver.

Ultrafiolett lys (UVA: 320-400 nm, UVB: 280-320 nm, UVC: 200-280 nm) har en lang historie med antimikrobiell bruk for desinfeksjon av substrater som luft-, vann- og overflater brukt til matlaging, men har ennå ikke vært nyttet i sammenheng med ektoparasittbehandling. UV-stråling skader nukleinsyrer ved å forårsake brudd i DNA-strengen. Disse mutasjonene kan blokkere DNA-transkripsjon og føre til avvikende celleatferd og / eller tap av nøyaktighet under replikasjon.

UVC er den mest brukte bølgelengden, da det er relativt billig å produsere ved bruk av lavtrykks kvikksølvdamper med en intensitetstopp rundt 254 nm bølgelengde, som ligger nær det maksimale absorpsjonsspekteret av DNA, slik at dødelig DNA-skade kan induseres med høy effektivitet.

Prosjektets omfang og mål

Målet med prosjektet (FHF 901460) var å teste en rekke doser med 254 nm UVC lys for å

avgjøre om de reduserte produksjonen av kopepoditter fra eggstrenger på lakselus.

I et multifaktorielt eksperiment varierte man lysintensitet, eksponeringsvarighet og antall eksponeringer for å undersøke grensen for hvor kumulativ varighet av flere korte eksponeringer påvirket utvikling og produksjon av kopepoditter.

Spesielt hadde man som mål å (1) kvantifisere effekter av spesifikke doser UVC lys på klekkesuksessen av luseeggene og kopepoditt produksjon; (2) gjennomføre en «proof of concept» for å teste om den samme effekten oppstår når eggstrenger er festet til modne hunnlus på laksen i karmiljø; (3) vurdere potensielle virkninger av UVC eksponering på fiskevelferd; og (4) diskutere muligheter og utfordringer for næringsmiddel eventuell bruk av metoden.

Metode

Eksperiment 1: Effekt på eggstrenger

For å teste UVC effekten på klekkesuksessen til egg hos lakselus, ble eggstrenger utsatt for UVC ved ulike intensiteter, eksponeringsfrekvenser (10, 100 og 250 eksponeringer) og eksponeringsvarighet (2 og 5 sekunder).

Eksperiment 2: Effekt på laks og eggstrenger hos lus festet på vertsfisk

I seks, replikate runde kar (3 m diameter, 5 m³) ble 160 postsmolt Atlantisk laks (gjennomsnitt ± SD: 240 ± 10 g) holdt per kar. Kopepoditter produsert fra lakselus innhentet fra kommersielle merder ble tilsatt karene for å infestere laksen med lus for forsøket.

Eksponeringsregimet startet 31 dager etter infestasjon for å tillate tid for hunnlus til å modne og produsere eggstrenger. UVC-dosen ble levert via lavtrykks kvikksølvdamper som produserte toppintensitet ved 254 nm (Planet Lighting Pty Ltd, Australia) i 10 dager. Vannstrømmens retning, og dermed fiskens svømmeretning, ble endret daglig for å eksponere laks og lus på begge sider av fisken med UVC lys.

Tre av seks kar ble tilfeldig valgt for å motta UVC behandling, og de resterende tre kar mottok ikke UVC-behandling (kontrollgruppen).

Innsamling av eggstrenger for inkubering fant sted 42 dager etter infeksjon og 11-12 dager etter at UVC-eksponeringsbehandlingene ble avsluttet.

Oppsummering

Ved Havforskningsinstituttet har man testet om 254 nm ultraviolett-C-lys (UVC) kan fungere som en ny behandling for å redusere produksjonen av smittsomme kopepoditter av lakselus i sjøbaserte oppdrettsanlegg.

I eksperiment 1 ble modne eggstrenger fra hunnlus samlet og eksponerte for nøyaktige doser UVC lys. En total dose på 0,008 J cm⁻² reduserte kopepodittproduksjonen med 5%, mens en 95% reduksjon oppstod ved 0,09 J cm⁻².

I eksperiment 2 ble laks med voksne lus eksponert for UVC lys mens de svømte fritt i kar over en 6-dagers periode, og oppnådde en dose på 0,1 J cm⁻².

Behandlingen resulterte i 99% reduksjon i produksjon av lakselus kopepoditter i forhold til kontrollgruppen.

UVC påvirket imidlertid fiskenes velferd negativt, gjennom økt nivå av katarakt og hudirritasjon.

I eksperiment 3 ble følsomheten av fisk (uten lus) til økende doser av UVC lys testet. Mindre hudskader oppstod fra omtrent 60% av effektive doser, mens katarakt begynte å utvikle seg ved svært lave doser.

Forskerne konkluderer med at UVC kan brukes med forsiktighet, enten for behandling av avløpsvann for å hindre luseegg og larver inn i miljøet (f.eks. etter avlusning), eller for korte tidsintervall i merdene for å begrense lusereproduksjonen til fisken slaktes.

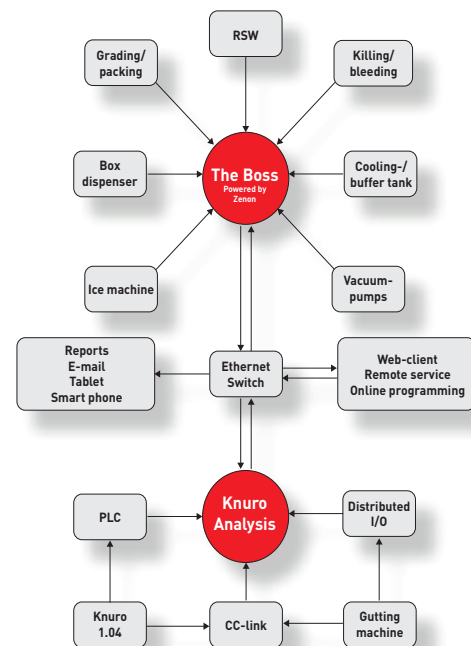
The Boss

– the monitoring genius

Your entire production site/factory/plant at your fingertips through a unique and user-friendly monitoring system. Gain a full overview of production anytime, anywhere!

The Boss has unlimited link-up options, allowing you to connect to both new and existing equipment.

knuro



KNURO AS

Kokstadveien 44, 5257 Kokstad, Norway

Tel: +47 489 96 678

Email: knut@knuro.no

www.knuro.no

Umiddelbart etter oppsamling ble eggstrenge-
ne inkubert i individuelle inkubatorbrønner
der de ble produsert til copepoditter.

Eksperiment 3: velferdsterskel for vertsfisk

Ett rundt kar (5 m diameter, 20 m³) ble fylt med
40 postsmolt Atlantisk laks (1063 ± 146 g).

UVC eksponeringer ble levert via en enkelt 40
W lavtrykks kvikksølvlamp-lampe hengt verti-
kalt i midten av tanken. Fisk ble holdt innenfor
200-250 cm fra lyskilden ved hjelp av et plast-
belagt stålgjerde som hindret den i å svømme
nær lyset i midten av karet. I dette området
ble fisken eksponert for en målt intensitet ved
254 nm på omtrent 0,5 µW cm⁻². Fisken svømte
mot klokka i hele forsøket, og mottok UVC
dosen kun på venstre side.

Resultater

Eksperiment 1

UVC behandlingen hadde en kraftig redusere-
rende effekt på luselarvenes overlevelse,
men forårsaket for det meste ikke en fullstendig
klekkehemming av eggstrenger. De be-
handlede eggstrenger hadde 93% sannsyn-
lighet for å produsere minst en naupliuslarve
(224/240), sammenlignet med 95% (229/240)
for eggstrenger i kontrollgruppen.

Eggstrenger utsatt for UVC bestråling ga be-
tydelig færre utviklede copepoditter. Uek-
sponerte eggstrenger produserte 112 ± 4 ko-
pepoditter per eggstreng, mens den sterkeste
behandlingen resulterte i kun 9 ± 6 copepodit-
ter per eggstreng (figur 1).

Kun 5% dødelighet ble oppnådd ved 0,008 J
cm⁻², men opp mot 95% dødelighet ved 0,09
J cm⁻², selv om modellerte estimater for effek-
tive doser kom med betydelig usikkerhet i den
øvre enden.

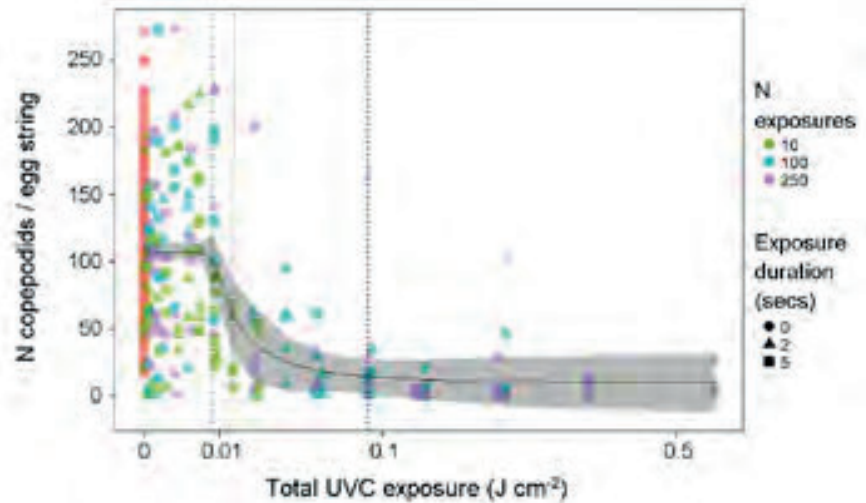
Den 95% effektive dosen tilsvarer omtrent 20
minutter på en avstand på 50 cm (gjennom
sjøvann) fra en 40 W lavtrykks kvikksølvlampe.

Eksperiment 2

UVC bestråling var ikke forbundet med lavere
tetthet av voksne lus (gjennomsnittlig lus per
fisk ± SE, UVC: 1,2 ± 0,2, Kontroll: 1,0 ± 0,2)

86% av UVC behandlede eggstrenger viste en
del klekking, mens alle eggstrenger fra kon-
trollgruppen hadde klekking. 25/72 inkuba-
torbrønner i UVC gruppen viste delvis klekking
med lav suksess.

Eggene som klekket gikk inn i det første nau-
pliustadiet, men deretter døde, noe som ind-
ikerte at UVC eksponeringen hadde påvirket
skallskifte suksessen mellom naupliuslarve
stadiene.



Figur 1. Antall copepoditter produsert per eggstreng, i forhold til total UVC eksponering (kombinert lysintensitet og kumulativ eksponeringsvarighet). Symbolene er farget og formet i henhold til antall og varighet av eksponeringer som danner den kumulative totaldosen. Vertikale stiplede linjer indikerer modellerte estimater for 5, 50 og 95% effektive doser (venstre til høyre).

UVC-behandlingen førte til en total reduksjon
på 66% i antall copepoditter produsert av de
behandlede eggstrenger. Antall dagers ek-
sponering for UVC-behandling (estimert fra da-
toen for første klekking) predikerte effekten av
UVC lyset (figur 2).

Det var en kraftig nedgang i copepoditt pro-
duksjonen fra eggstrenge som hadde blitt
utsatt for UVC regimet i 4 dager, og antall ko-
pepoditter produsert ble redusert med > 99%
etter 6 døgns eksponering (Tabell 1). Dose-re-
spons funksjonen estimerte 10% effektiv dose
for UVC behandling etter 3,4 dager (~ 0,050 J
cm⁻²), 50% ved 3,7 dager (~ 0,055 J cm⁻²) og
90% ved 4,0 dager (~ 0,060 J cm⁻²).

Velferdsskår (SWIM) viste negative effekter på
fiskene som ble utsatt for UVC lyset. UVC be-
handlet fisk skåret gjennomgående dårligere
enn kontrollfisk i finnestatus (lavere er bedre,
UVC: 2,3 ± 0,1 mot kontroll: 2,0 ± 0,1), hud (4,3
± 0,1 versus 1,8 ± 0,1) og øyetilstand (3,4 ± 0,1
versus 1,8 ± 0,1).

Disse beregningene bidro til en nedgang i den
samlede velferdsindeksen (OWI: (høyere er be-
dre) 0,7 ± 0,01 versus 0,8 ± 0,01). Dårligere skår
på øyetilstand skyldtes en høyere forekomst av
tidlig stadium av katarakt i UVC fisk (typisk et
diffust 1-3 mm overskyet område i øyets midt-
punkt) og tegn på hudirritasjon var vanligvis
overfladisk blødning ved skjellenes base.

Fisk i UVC-gruppen viste også atferd som var i
samsvar med hudirritasjon, inkludert hyppigere
hopping (2,7 x) og gnidning/ kløing mot
kar bunn (32 x) enn kontrollgruppen.

Eksperiment 3

Fiskene i eksperiment 3 ble delt inn i 10 grup-
per, hver eksponert for en UVC dose som tilsvarer
0-90% av effektiv dose mot lus, som estimert
fra eksperiment 1.

Det ble ikke observert tegn på irritasjon, som
for eksempel gnidning eller hopping, under de
daglige adferdsobservasjonene.

Analyser av hud- og øyeobservasjoner ind-
ikerte imidlertid at tilstanden gikk ned med
økende dose (figur 3).

Forverring av velferd over tid var mest synlig på
hudens tilstand, hvor all fisk utsatt for «høyere»
dosenivåer utviklet mindre hudskader. De
«høye» UVC doser tilsvarte nivå mer enn 60%
av hva som i tidligere forsøk ga redusert pro-
duksjon av copepoditter.

Ingen fisk fikk en hudscore på 4 eller høyere.
Skjelltap synes ikke å være relatert til UVC ek-
sponering og forble omtrent konstant over tid
uavhengig av dosenivå.

Prevalens (forekomst) av katarakt var svært
variabel, men syntes å øke jevnt med dos-
enivå. Av de 26/40 fiskene som ble skåret til
å ha katarakt var 13 bare i venstre øye, 11 var
i begge øyne og 2 var kun i høyre øye. Dette
samsvarer med at UVC eksponeringen var
hovedsakelig på venstre øye ettersom lyset var
plassert i senter og fisken svømte mot klokken.

Diskusjon

Effekter av UVC på lusens egg- og larveutvikling

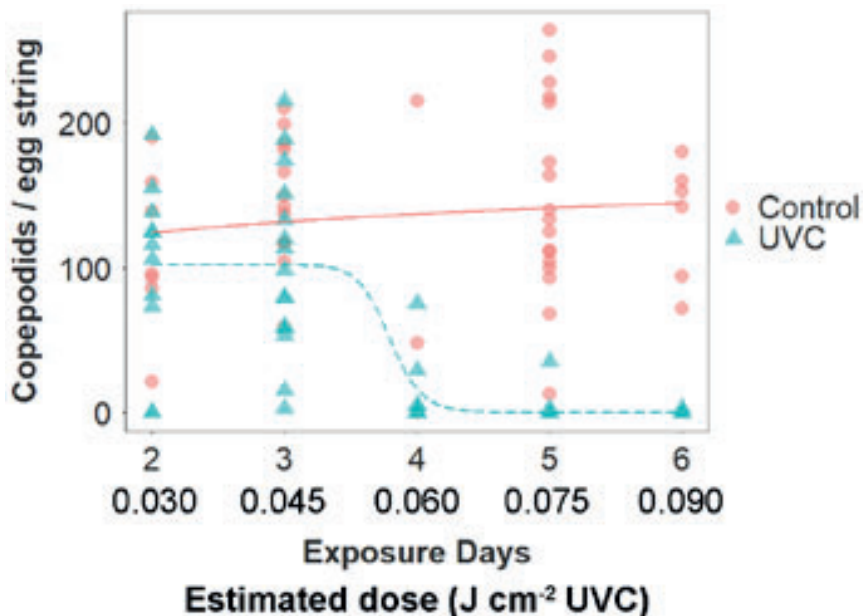
Eksponering av lusens eggstrenger for UVC

forårsaket betydelig reduksjon i kopepoditt produksjonen. Effekten er korrelert med totaldosen som ble gitt og nær fullstendig dødelighet ble observert hos befruktede egg som ble indusert ved de høyeste dosene (0,1 J cm⁻²).

Dødeligheten skjedde over flere stadier i egg- og larveutviklingen. I eksperiment 1 gjennomgikk 93-95% av eggstrengene delvis klekking uavhengig av behandlingen, mens de UVC behandlede eggstrenger klekket færre larver som utviklet seg til det infektive kopepoditt stadiet. I forsøk 1 og 2 var det svært mange døde nauplielarver i inkubatorbrønnene med behandlede eggstrenger; noen døde under eller kort tid etter klekking, mens andre levde i flere dager som nauplielarver. Det virket som at larvene ikke klarte å gå gjennom suksessfulle skallskifter fra naupliestadie 1 til naupliestadie 2 og videre til kopepoditt larve.

Virkninger på fiskevelferd

I denne studien ble det observert hudskader i UVC eksponert laks i eksperiment 2 og overdreven gnidnings/ skrubbing mot karbunn og hoppende atferd hos berørte fisk. Denne atferdene førte sannsynligvis også til ytterligere skader som følge av fysisk kontakt med karveggen, og lysutstyr.



Figur 2. Kopepodittproduksjon i forhold til behandlingsgruppe (UVC, Kontroll) og estimert antall dager i mellom ekstrudering og innsamling av eggstrenger (tilsvarende kumulativ eksponering for behandlingen i UVC-gruppen). Anslått dato for ekstrudering av eggstreng var basert på antall dager mellom innsamling og første klekking. Dose-respons forholdet er tilpasset med en 3-parameter log-logistisk funksjon.

BERNOULLIFILTER

Det originale BernoulliFilter.

Over 500 Bernoulli filter solgt i Norge siden 1990.

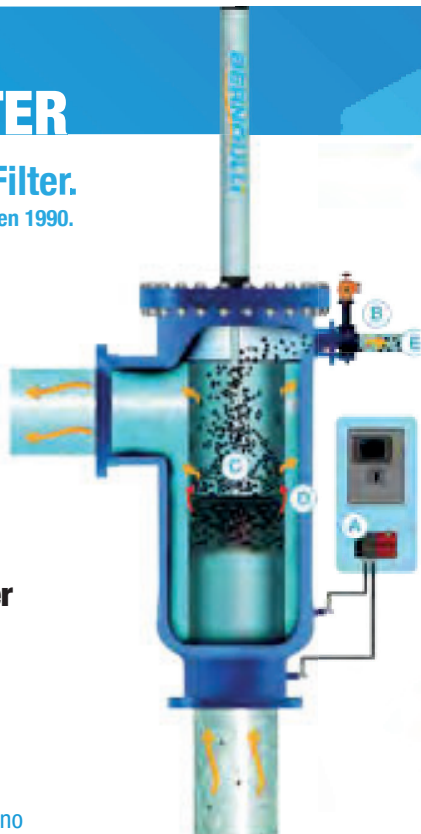
Et helautomatisk filter for ferskvann, sjøvann og prosessvæsker.

Filtret motvirker effektivt gjentetting og smuss på trykksatte system.

Teknologien i filtret utnytter Bernoullis prinsipp.



Telefon 74 16 73 90 | norway@teknor.no
www.teknor.no



- A** Spølsekvensen initieres antingen av en timerinställning eller av differentialtrycksvakten innan någon blockering av filterkorgen orsakar födesreducing.
- B** Under förspolningen öppnas spolventilen och större partiklar spolas ut.
- C** Under spolsekvensen förs en specialformad disk monterad på en pneumatisk cylinder in i filterkorgen där den skapar ett mellanrum mellan disken och filterkorgen.
- D** Flödes hastigheten ökar lokalt runt disken samtidigt som det statiska trycket minskar i enlighet med Bernoullis princip. Flödesriktningen reverseras och därmed frigörs partiklar som fastnat på filterkorgens yta.
- E** De lösa partiklarna lämnar filtret genom spolutloppet.

Disse skader besto vanligvis av mindre blødninger ved bunnen av skjellene, og i de alvorligste tilfellene tap av skjell og synlige avskrap av slim og delvis hud, eller sår fra kontakt med ru overflater.

Dødeligheten var økt blant UVC behandlet fisk, sannsynligvis forårsaket av en kombinasjon av redusert immuntoleranse som følge av UVC eksponering og osmotisk stress fra hudsår.

Fisk viste ingen tegn til unnvikelse av UVC lamper, enten de ble slått på eller av. Etter 2-3 dager med UVC eksponering, foregikk gnidning og hopping uansett om lampene var på eller av ved observasjonstidspunktet. Dette indikerer at fisk ikke har umiddelbart ubehag ved eksponering for UVC, og forsøker derfor ikke å unngå potensielt skadelig eksponering. Selv om vi ikke observerte atferdsmessige indikasjoner på irritasjon i eksperiment 3, var forekomsten av mindre «skrubbsår» og sår tilstede på de fleste fisk i 70-90% dosenivågruppene i samsvar med funn fra forsøk 2.

Katarakt er vanlig i oppdrettslaks. Dannelsen har blitt tilskrevet en rekke ulike og miljømessige årsaker, inkludert triploiditet, diettmangel, temperatur og UV eksponering. Denne studien viser høyere frekvens av katarakt i tidlig stadium i UVC gruppen og rask kataraktdannelse etter UVC eksponering.

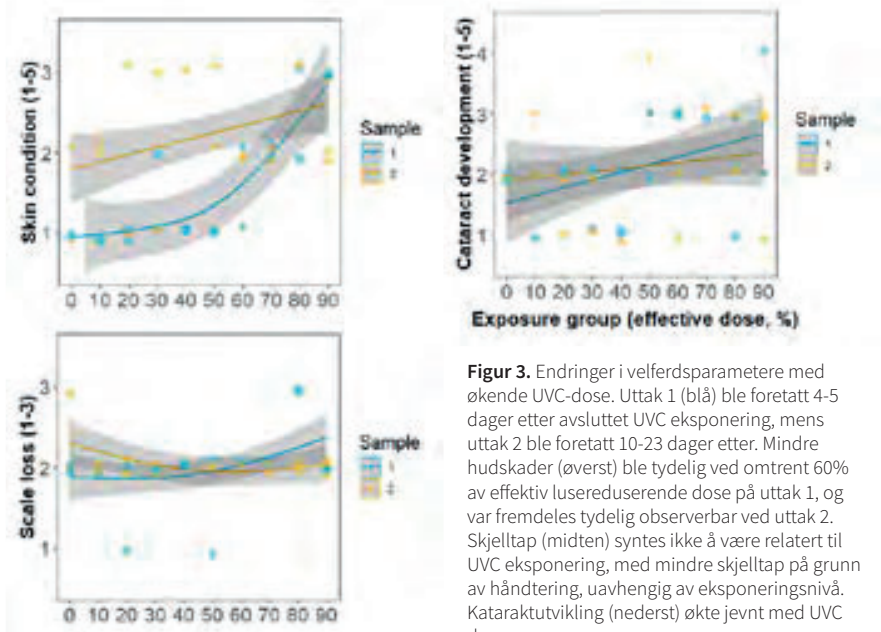
For å unngå ytterligere velferdsproblemer i forsøk 2 holdt vi ikke fisk utover den eksperimentelle perioden for å teste om linsen eller hornhinnen ville heles. I forsøk 3 økte andel fisk med katarakt ved det første uttaket gradvis med mengden av UVC eksponering og det var ingen tegn til at dette forsvant etter de neste 10-23 dager.

Muligheter og utfordringer for anvendelse i bransjen

UVC bestråling har umiddelbare anvendelsesområder for akvakultur. Mange nåværende avlusningsmetoder for laks (som mekaniske og termiske behandlinger) produserer avløpsvann som inneholder levende lus, levedyktige eggstrenger og andre patogener som kan komme inn i miljøet og øke reinfeksjonsrisiko.

Filtering av dette avløpsvannet blir i økende grad gjort, men konsentrerte høye doser av UVC bestråling av avløpsvann kan være en billigere og mer pålitelig metode for å hindre levedyktige luseegg i å komme ut i miljøet.

UVC behandling kan også brukes på andre former for avløpsvann, for eksempel i avløp fra oppsamlingssystemer for dødfisk. Lysintensiteten som da er nødvendig for å oppnå



Figur 3. Endringer i velferdsparametere med økende UVC-dose. Uttak 1 (blå) ble foretatt 4-5 dager etter avsluttet UVC eksponering, mens uttak 2 ble foretatt 10-23 dager etter. Mindre hudskader (øverst) ble tydelig ved omtrent 60% av effektiv lusereduserende dose på uttak 1, og var fremdeles tydelig observerbar ved uttak 2. Skjelltap (midten) syntes ikke å være relatert til UVC eksponering, med mindre skjelltap på grunn av håndtering, uavhengig av eksponeringsnivå. Kataraktutvikling (nederst) økte jevnt med UVC dose.

en effektiv dose vil blant annet avhenge av vannstrømmens hastighet, avstand og vannets turbiditet.

En potensiell fremtidig anvendelse av UVC lys som involverer direkte eksponering av luseinfesterte laks må overvinne store utfordringer: (1) å oppnå en tilstrekkelig dose gitt den raske absorpsjon av UVC lys i sjøvann, og (2) å undertrykke lusens reproduksjon uten å redusere laksens velferd i løpet av brukstiden og påfølgende periode.

Den første utfordringen kan håndteres best ved å installere mange små lyskilder, for eksempel i form av en «gardin» av hengende UVC lyskilder som enkeltfisk må passere gjennom mens de svømmer rundt i merden, eller ved hjelp av lamper i kombinasjon med en «snorke» for å eksponere enkeltfisk på nært hold med korte varigheter.

Lavere sjøvannstemperaturer kan favorisere en slik tilnærming, ettersom eggstrenger da utvikler seg saktere og kan derfor bli mer repetitivt eksponert over lengre tid.

Undervannsbelysning er allerede i utbredt bruk i merder for å undertrykke kjønnsmodning og nylig også for å styre laksens svømmedyp unna luselarvene.

Den andre utfordringen som handler om bivirkning på fisk vil kreve nøye kontroll av doser for å oppnå mindre reduksjon i kopepodittproduksjonen, samtidig som akseptabel fiskevelferd opprettholdes.

Før en eventuell anvendelse i bransjen, er mer forskning nødvendig for å identifisere hvordan eksponeringsregimer i både nøye kontrollerbar og kommersiell skala påvirker bivirkningene, inkludert langsiktige symptomer i løpet av produksjonssyklus (for eksempel utvikling av kreft eller hudlidelser).

Dersom effektive doser kan gis med minimale kortsiktige bivirkninger, kan det være tilfeller der undertrykkelse av lakselusens reproduksjon med UVC eksponering er en nyttig metode. For eksempel kan man vurdere om kopepodittproduksjonen kan undertrykkes mens man venter på avlusning eller slakting.

Hvis det ikke er mulig å redusere lusereproduksjonen med UVC lys i merder uten å skade laks, er det fortsatt mulig å bruke metoden direkte rettet mot lus eller eggstrenger når de er løstrevet fra laks. Et eksempel er at mekanisk og termisk behandling fjerner lus som samles opp i avløpsvannet. UVC behandling av alt behandlingsvann kan vise seg å være mer kostnadseffektivt enn filtreringsteknologi. En slik anvendelse av UVC lys kan også gi andre fordeler, som for eksempel å redusere overføring av andre patogener (bakterier og virus) som også ofte forekommer i behandlingsvannet.

Dette prosjektet vurderte primært effekter av UVC på dødelighet av luseegg og deres utvikling til kopepodittlarver, men UVC bestråling på subletale nivåer kan muligens også ha viktige undertrykkende effekter på voksne lus og dermed på hele lusepopulasjoner.

Steriliserte individer, spesielt hanner, kan uforholdsmessig mye påvirke populasjoner ved at hunner investerer i infertile befruktninger. Denne strategien har blitt vellykket brukt til å kontrollere andre skadedyrarter, for eksempel frigjøring av hannmygg sterilisert ved stråling for å fungere som «eggfeller» for hannmygg, og kan muligens vise seg effektiv i lakselusbekjempelse.

Konklusjoner

Langsiktig begrensning av lakselus populasjoner i oppdrett vil avhenge av flere komplementære strategier, som spenner fra infeksjonsforebygging til kontroll etter infeksjonene. I disse forsøkene har man vist at tilstrekkelige doser av UVC bestråling kan dramatisk redusere produksjonen av infektive individer fra eggstrenger av lakselus. Bruk av UVC-lys i behandling av avløpsvann fra lusebehandling kan gi umiddelbare fordeler.

Belysning av UVC-lys på luseinfisert laks via undervannslamper kan forhindre befruktede lakselus-eggstrenger i å utvikle seg til de infesterende stadier, men negative velferdseffekter observeres med økende dose.

Muligheten for å implementere denne metoden til fullskala, industrielle forhold vil avhenge av at man utvikler eksponeringsregimer som gir kostnadseffektive reduksjoner i luseproduksjon med minimale bivirkninger for laksen •

Tabell 1. Produksjon av kopepoditter per eggstreng i henhold til estimert dose mottatt per eggstreng (kun UVC behandlede kar)

| Estimert dager med UVC | Kumulativ dose (J cm ⁻²) | Antall voksne hunnlus | Kopepoditter per eggstreng (middel ± SD) |
|------------------------|--------------------------------------|-----------------------|--|
| 2 | 0,030 | 11 | 101 ± 60 |
| 3 | 0,045 | 15 | 103 ± 62 |
| 4 | 0,060 | 7 | 16 ± 28 |
| 5 | 0,075 | 9 | 9 ± 21 |
| 6 | 0,090 | 19 | 0,2 ± 0,7 |

Apollo sorterer med større kapasitet

NYHET: Apollo XL, 50% lengre valser øker kapasiteten!

Nye Apollo XL sorterer fisk fra 5 -1200 gram og standard maskin sorterer 1 - 600 gram. Kapasitet avhenger av maskinstørrelse; 4, 5, 7 eller 10 spor og leveres med mulighet for 3 eller 4 sorteringer. Vannavskiller med pleksiglass for enkel inspeksjon.

Integrert vannavskiller

Be om pakketilbud på fiskepumpe, sorteringsmaskin og fisketeller!

Les mer på fishtech.no, ring 64859400 eller send epost til mail@fishtech.no

fishtech **Fish Tech as**
- vi tar vare på dine levende verdier



Stand F-581

