



Mattilsynet Seksjon fiskehelse og fiskevelferd v/Paul Negård

Deres Ref: 2015/258798

Our ref: 15/65663

Date: 10.februar 2016

Mulighet og/eller sannsynlighet for at lakselus kan utvikle endret toleranse for ferskvann som følge av behandlinger med ferskvann mot lakselus og AGD i oppdrettsanlegg - forvaltningstøtte

Ferskvann blir i økende grad benyttet som behandling mot lakselus og AGD. Det er stilt spørsmål om denne bruk av ferskvann kan utgjøre et økt seleksjonstrykk slik at lakselus sin toleranse for ferskvann endres.

Hva vet vi om lakselus sin toleranse for ferskvann?

Lakselus finnes naturlig på laksefisk i den marine fasen. Lakselus på sjørret i fjordområder vil spesielt kunne bli utsatt for varierende salinitet ved at verten beveger seg mellom områder med ulik saltholdighet. Det forventes derfor at de ulike parasittiske livsstadier av lakselus tåler svingninger i salinitet. Det er utført flere studier der ulike stadier av lakselusens overlevelse og infeksjonsevne er undersøkt etter eksponering for ferskvann. Disse studiene viser at kopepoditter er mer følsomme for nedsatt salinitet enn de senere lakselusstadiene.

Kopepoditter

For lakselus kopepoditter er det vist at overlevelse og infektivitet nedsettes ved salinitet under <27ppt (Bricknell et al 2006), men noen individer fortsetter å være infektive etter korte eksponeringer for sjøvann med nedsatt salinitet. I dette arbeidet er det for øvrig også observert i eksperimentelle studier at kopepoditter unngår vann med lav salinitet ved å endre svømmeadferden og øke synkehastighet. Undersøkelse av genregulering i kopepoditter (Sutherland et al 2012) har videre vist at disse stadiene har liten evne til å håndtere ferskvann og vil få et osmotisk sammenbrudd ved 26 promille. I ferskvann vil kopepoditter dø raskt. Klekking av egg og overlevelse frem til kopepoditt er også kraftig redusert ved lav salinitet.

Fastsittende og bevegelige lus

De senere stadiene av lakselus som sitter på en vert (chalmus I til voksne lakselus) tåler redusert salinitet langt bedre. Den osmotiske responsen til preadulte og voksne lus er studert i sjøvann, brakkevann (37 % sjøvann) og ferskvann (Hahnekamp og Fyhn 1985). Dette studiet gir en klar pekepinn på de osmoregulatoriske egenskapene til lakselus og følsomhet for ferskvann. Lakselus er isoosmotisk i sjøvann, det vil si at det ikke skjer en netto bevegelse av vann mellom kroppen og omgivelsene selv om sammensetning av løste stoffer i kroppsvæsken (haemolymfe hos lakselus) er svært forskjellig fra omgivelsene. Dette skyldes en aktiv osmotisk ioneregulering. I fortynnet sjøvann (brakkevann) er lakselus hyperosmotisk både i forhold til miljø og laksens blod, det vil si at det er netto flyt av vann inn i lakselusen. På grunn av den osmoregulerende egenskapen til lakselus vil dette forholdet stabilisere seg etter noe tid (24 timer) uavhengig av om lakselusen sitter på laksen eller er frittlevende (løsnet fra laksen - ikke larvestadier). Lakselusen er altså ikke avhengig av laksens osmoregulering for å overleve i brakkevann. I ferskvann responderer imidlertid frittlevende lus og lus som sitter på laksen forskjellig. Haemolymfen til lakselus fortynnes i mye større grad hos frittlevende lakselus enn hos lakselus som sitter fast på

laksen. Dette skyldes trolig at lus som sitter fast på laksen oppnår en langsommere endring i saltbalansen på grunn av inntak av salter eller andre osmolytter fra verten via føde. Lus som sitter fast på fisken kan overleve i minst 1 uke i ferskvann, mens frittlevende lus dør etter 8 timer. Man kan derfor også spørre seg om effekt av ferskvannsbehandling mot lakselus skyldes at lus løsner og/eller stresses til å ikke innta salt fra verten.

Vil endret seleksjonstrykk kunne endre følsomhet for ferskvann?

Lakselus har stor tilpasningsevne og stor reproduksjonsevne som økes med tilgang på mange verter, og den kan endre seg som følge av påvirkning. Dette vises spesielt i dagens utvikling av resistens mot legemidler. Ved ensidig bruk av det enkelte virkestoff vil lakselus med gener som koder for nedsatt følsomhet (bedre overlevelse) bli selektert som følge av behandling. Det kan være mutasjoner i ett eller flere gen som medfører utvikling av lakselus med endret toleranse mot behandling. Denne type endring av følsomhet som følge av økt seleksjonstrykk har funnet sted mot azametifos, emamectin, pyretrorider og hydrogenperoksid.

Lakselus som sitter på vill laksefisk blir utsatt for ferskvann når fisken vandrer opp i ferskvann. Dette har skjedd i alle tider og det finnes ikke studier eller andre indikasjoner som viser at dette har medført en naturlig seleksjon av lakselus med større ferskvannstoleranse. Ved økende bruk av ferskvann som behandlingsmetode mot lakselus og AGD, vil langt flere lakselus bli eksponert for ferskvann og dermed bli utsatt for et endret seleksjonstrykk som kan gi risiko for økt toleranse for ferskvann. Denne økte toleransen vil kunne skyldes at lusens kapasitet til osmoregulering i lav salinitet/ferskvann endres. Osmoregulering skjer ved ATPase-drevne ionepumper, hovedsakelig Na⁺/K⁺ pumper, som finnes i cellemembraner. Disse ionepumpene sørger for aktiv transport av Na⁺ og K⁺ mot en konsentrasjonsgradient slik at organismen i et hyperosmotisk miljø kan kvitte seg med overskudd av Na⁺ ioner selv om det er høyere konsentrasjon av disse i vannet i forhold til kroppsvæsken. Na⁺ ioner kan også transporteres motsatt vei slik at organismen kan ta opp ionene i et hypoosmotisk miljø (lav salinitet). Andre enzymer og ionepumper medvirker også til ioneregulering, f.eks. V-type H⁺ ATPase, karboanhydrase m.m. (gjennomgått i Luce & Towle 2003 og Bianchini et al 2008). Mekanismene kan til en viss grad reguleres, selv hos organismer som har lav ferskvannstoleranse, f.eks. europeisk hummer. Disse systemene er konserverte og finnes i alle celler i alle levende organismer (bakterier, archaea og eukaryoter). Det er rapportert at frittlevende marine copepoder kan invadere ferskvann (Lee et al 2012) og at dette er mulig på grunn av bedre evne til ioneregulering (Lee et al 2011). I dette studiet ble det påvist endret aktivitet til V-type H⁺ ATPase og Na⁺/K⁺ ATPase og at denne endringen skjedde raskt både eksperimentelt (noen få generasjoner) og i naturen (noen få tiår). Selv om denne marine copepoditten (*Eurytemora affinis*) er forskjellig fra og har en annen livssyklus enn lakselus, viser dette eksempelet at det kan skje en endring i disse konserverte systemene som kan medføre endret toleranse for ferskvann.

Om økt seleksjonstrykk som følge av ferskvannsbehandling kan medføre utvikling av en lakselus med endret toleranse mot ferskvann, avhenger av hvilke mekanismer (og gener som koder for dette) som må endres. Trolig er det en endring i den osmoregulerende egenskapen som må finne sted for at lakselus skal kunne endre toleranse for ferskvann.

En endring i lakselusens toleranse for ferskvann kan bety to situasjoner:

- lakselus utvikler seg til en organisme som kan reproducere i ferskvann med konsekvens at vill laksefisk i ferskvann blir verter
- lakselus overlever lengre i ferskvann/brakkvann med konsekvens at ferskvannsbehandling mister sin effekt

Den ytterste konsekvensen, at man ender opp med en lakselus som kan osmoregulere i ferskvann og fullføre livssyklus i ferskvann, antas som lite sannsynlig. Dette fordi egg og

larver har svært liten toleranse for ferskvann, og at det trolig er mange gener som må endres for at alle lakselusstadier skal kunne overleve i ferskvann.

Det er imidlertid rimelig å anta at man kan selektere for lakselus med god evne til osmoregulering ved lav salinitet, noe som medfører redusert/ingen effekt av ferskvannsbehandling. Vi har ingen klar kunnskap som underbygger denne vurderingen, men det kan ikke utelukkes at denne situasjonen kan finne sted. Antagelsen er basert på at det kan skje en endring i ekspresjonen av de konserverte ionetransportsystemene som medfører at lusa endrer osmoregulering og toleranse for ferskvann. En slik endring kan ha utgangspunkt i naturlig genvariasjon og drives av gjentatt seleksjon for de mest ferskvannstolerante individene.

Studier fra Chile (Bravo et al. 2008) viser at *Caligus rogercresseyi* er sensitiv for sjøvann med salinitet lavere enn 20 promille, men at det er observert variasjon i denne sensitiviteten som kan settes i sammenheng med om lusen kommer fra et område med ferskvannspåvirkning eller ei. Dette indikerer at det kan være variasjoner i genene som styrer lakselusens osmoregulatoriske egenskaper, og disse variasjonene kan danne basis for en endring i egenskaper som følge av økt seleksjonstrykk.

Det er rimelig å anta at en endring vil kunne finne sted, særlig dersom seleksjonen blir gjentatt over flere påfølgende generasjoner. Hvor raskt en slik evolusjonær endring kan skje og konsekvensen av den er imidlertid uvisst.

Det anbefales derfor å overvåke lakselusen sin sensitivitet for ferskvann, både ved å utvikle klassiske bioassays for salinitet og ved grunnleggende studier av lakselusens enzym- og genvariasjon som følge av ferskvannspåvirkning. Videre bør det sikres at ferskvannsbehandling ikke gjennomføres på etterfølgende generasjoner av lus men brukes i rotasjon sammen med andre tiltak mot lakselus.

Det er startet opp et arbeid for å etablere et klassisk bioassay for salinitet ved SLRC (NMBU). Testen vil kunne brukes i overvåkning for å etablere et referansepunkt for lakselus sin følsomhet for ferskvann. Ved SLRC (UiB) pågår det flere prosjekter som studerer osmoregulering i lakselus. Videre gjennomføres det ved Veterinærinstituttet for tiden et FHF-prosjekt der effekten av ferskvannsbehandling på amøben *Paramoeba perurans* studeres ved ulike betingelser. Studiet omfatter også nedsatt følsomhet hos amøben som følge av gjentatte ferskvannsbehandlinger. Undersøkelsene ferdigstilles mot slutten av 2016.

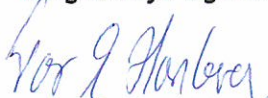
Veterinærinstituttet


Randi Nygaard Grøntvedt

Universitetet i Bergen/SLRC


Frank Nilsen

Norges miljø- og biovitenskapelige universitet/SLRC


Tor Einar Horsberg

Referanser:

Bianchini, A. et al. (2008). Biochemical and physiological adaptations in the estuarine crab *Neohelice granulata* during salinity acclimation. *Comp. Biochem. Physiol. A* 151, 426-436.

Bravo, S., Pozo, V. and Silva, M.T. (2008). The tolerance of *Caligus rogercresseyi* to salinity reduced in southern Chile. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 28(5): 198-206.

Bricknell, Ian R. et al (2006). Effect of environmental salinity on sea lice *Lepeophtheirus salmonis* settlement success. *Diseases of aquatic organisms* 71:201-212.

Hahnenkamp, Lutz, and Hans Jørgen Fyhn (1985). The osmotic response of salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae), during the transition from sea water to fresh water. *Journal of Comparative Physiology B* 155.3: 357-365.

Lee, Carol E. et al (2011). Pumping ions: rapid parallel evolution of ionic regulation following habitat invasions. *Evolution* 65-8: 2229-2244.

Lee, Carol E., Posavi, M. and Charmantier, G. (2012). Rapid evolution of body fluid regulation following independent invasions into freshwater habitats. *Journal of evolutionary biology* 25: 625-633.

Lucu, Č., Towle, D.W. (2003). Na⁺K⁺-ATPase in gills of aquatic crustacea. *Comp. Biochem. Physiol. A* 135, 195-214.

Sutherland, Ben JG et al. (2012). Transcriptomics of coping strategies in free-swimming *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda) larvae responding to abiotic stress. *Molecular ecology* 21.24: 6000-6014.