

## Notat

<i>Tittel:</i> <b>Antall fisk som må telles for å kunne påvise en gitt sann økning i antall lus per fisk med en bedre tellemetode</b>	<i>Tilgjengelighet:</i> <b>Åpen</b>
<b>Vedlegg til rapport 34/2016 «Telling av lakselus»</b>	<i>Dato:</i> 21. november 2016
<i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i> Bjarne Gjerde <sup>1</sup> og Ingrid Lein <sup>2</sup>	<i>Ant. sider og vedlegg:</i> 11 + 2
<i>Avdeling:</i> <sup>1</sup> Avl og genetikk, <sup>2</sup> Produksjonsbiologi	<i>Prosjektnr.:</i> 11155
<i>Oppdragsgiver:</i> Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond (FHF)	<i>Oppdragsgivers ref.:</i> 901044

## **Innhold**

<b>1</b>	<b>Sammendrag .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Bakgrunn .....</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>Materiale og metoder .....</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>Hvor stor økning i antall lus per fisk er ønskelig å påvise med en ny tellemetode....</b>	<b>4</b>
<b>5</b>	<b>Resultater .....</b>	<b>5</b>

# 1 Sammendrag

***For å kunne dokumentere 20-30 % sann økning i totalt antall fastsittende og bevegelige lus per fisk med en ny tellemetode (f. eks. tilleggslys) må det telles lus på minst 200 – 600 fisk avhengig av om fisken i gjennomsnitt har mange (om lag 2) eller få (om lag 0,5) lus.***

Pålitelige tall for antall lus på laks i merd er viktig for å kunne sette inn tiltak mot lusa på rett tidspunkt. Lys- og værforhold kan påvirke telleresultatene ved merdkanten. En optimalisering og standardisering av lysforholdene ved hver telling vil trolig kunne gi mer pålitelige og mer sammenlignbare tall både mellom de ukentlige tellingene på hver lokalitet og mellom tellingene på ulike lokaliteter. I prosjektet «Telling av lus» (FHF-901044) ble det ikke funnet noen systematiske forskjeller i antall lus per fisk når en talte lus på tre lokaliteter hver 14. dag i februar-april under naturlig lysforhold ved merden, i en lyskasse, eller under en lupelampe. Disse resultatene samsvarer ikke med tellernes subjektive mening om hvor viktig lyset er for telling av lus og tidligere funn hos Nofima hvor det ble funnet 58 % flere fastsittende lus per fisk på en dag i september med skyfri himmel og sol enn dagen før med overskyet himmel. En mulig årsak til dette er trolig at det i FHF-prosjektet ble talt et lite antall fisk per lokalitet (=3 merder x 20 fisk/merd/telling) og at forskjellen i den naturlige lysstyrken på en overskyet vinterdag (500-2000 lux) og lysstyrken fra et kunstig tilleggslys (4000-5000 lux) er relativt liten i forhold til den naturlige lysstyrken på en dag med skyfri himmel og sol (60 000-80 000 lux). Derfor kan vi i vinterhalvåret neppe forvente å finne mer enn 20-30 % flere fastsittende og bevegelige lus ved telling under et optimalt tilleggslys. Og ved telling av voksne holus, som er vesentlig større enn de fastsittende og bevegelige lusene, må en anta at den positive effekten av tilleggslys er mindre.

Lusedata fra FHF-prosjektet ble også brukt til å undersøke hvor mange fisk som må telles for å kunne påvise en gitt sann økning i antall lus per fisk med en ny og bedre tellemetode. I gjennomsnitt for de seks tellingene var gjennomsnitt antall fastsittende, bevegelige og voksne holus 0,76, 1,33 og 0,24 (Lokalitet 1), 0,28, 0,48 og 0,15 (Lokalitet 2) og 0,16, 0,39 og 0,08 (Lokalitet 3). For å kunne påvise en  $\geq 30$  % økning i totalt antall voksne holus må vi telle om lag 250 (Lokalitet 3), 435 (Lokalitet 2) og 520 fisk med en ny og bedre tellemetode. For å kunne påvise en økning på  $\geq 20$  % voksne holus må vi telle over 500 fisk på hver av de tre lokalitetene. For å kunne påvise en  $\geq 30$  % økning i totalt antall fastsittende og bevegelige lus må vi telle om lag 45 (Lokalitet 1), 75 (Lokalitet 2) og 135 (Lokalitet 3) fisk. For å kunne påvise en  $\geq 20$  % økning i fastsittende og bevegelige lus må en telle 100 (Lokalitet 1), 170 (Lokalitet 2) og 305 (Lokalitet 3) fisk. I et forsøk der en skal teste en ny tellemetode må en telle de samme fiskene to ganger (med standard og ny metode), og tre ganger hvis en skal teste to nye metoder. Siden det kan være relativt store forskjeller i gjennomsnittlig antall talte lus mellom personer, er det også viktig å få undersøkt om en gitt økning i antall lus for en tellemetode er konsistente over personer. For å kunne påvise en relativt beskjeden men realistisk økning i antall talte lus med en ny tellemetode må vi derfor telle mange fisk. Og aller helst bør en slik telling gjøres både under dårlige (desember-januar) og middels gode (mars-april) naturlige lysforhold. For å eventuelt kunne forsvare telling med tilleggslys bør en gjennomføre et kontrollert forsøk med telling under naturlige lysforhold ved merden og under et antatt optimalt tilleggslys. For å kunne påvise 20-30 % sann økning i totalt antall fastsittende og bevegelige lus med tilleggslys må hver person da telle 200-600 fisk avhengig av om fisken i gjennomsnitt har mange (om lag 2) eller få (om lag 0,5) lus.

## 2 Bakgrunn

Pålitelige tall for antall lakselus på laks i merd er viktig for å kunne sette inn tiltak mot lusa på rett tidspunkt. Lokale lys- og værforhold kan påvirke telleresultatene ved merdkanten. På oppdrag av FHF gjennomførte Nofima, Philips Lighting, Lerøy Midt og Marine Harvest et prosjekt (FHF 901044) for å klarlegge årsaker til mulige avvik mellom rapportert og virkelig antall lus per fisk. Det ble foretatt seks lusetellinger på hver av tre lokaliteter på Nordmøre hver 14. dag i februar-april 2015. Det ble talt 20 fisk/merd i tre merder/lokalitet og telling. Antall fastsittende lus, antall bevegelige lus og antall voksne holus ble talt på samme fisk på tre ulike måter: 1) standard telling på båt ved merden uten kunstig lys 2) i en lyskasse med to valgfrie bølgelengder og intensiteter 3) under lupelampe. Det ble ikke funnet noen systematiske forskjeller i antall lus per fisk mellom de tre tellemetodene. Manglende sammenheng mellom lysforhold og lusetall i dette forsøket samsvarer ikke med tellernes subjektive mening om hvor viktig lyset er for tellingen og tidligere funn hos Nofima. Det ble derfor konkludert med at det bør gjennomføres et mer kontrollert forsøk hvor en undersøker effekt av tilleggslys, type tilleggslys (fast arbeidslys, hodelykt) og lysintensitet på telleresultatene.

Før vi gjennomfører et slikt forsøk er det viktig å ta stilling til hvor stor økning i antall lus per fisk vi kan forvente å påvise med en ny tellemetode, og hvor mange fisk vi må telle for å kunne påvise en slik økning.

### 3 Materiale og metoder

For å undersøke dette brukte vi data fra det nevnte FHF-prosjektet (se Vedlegg 1). I analysen brukte vi differansen mellom antall lus per fisk fra standard telling ved merden og antall lus talt under lupelampen; dvs.  $d = \text{Merden} - \text{Lupe}$ . For hver lokalitet ble denne differansen for hver type lus og totalt antall lus analysert med denne statistiske modellen:

$$d_{ijk} = \text{Telling}_i + \text{Merden}_{ij} + e_{ijk}$$

der

$\text{Telling}_i$  er en fast effekt av telling  $i$  ( $=1, 2, \dots, 6$ ),  $\text{Merden}_{ij}$  en tilfeldig effekt av merden  $j$  ( $=1, 2, 3$ ) innenfor telling  $i$ , og  $e_{ijk}$  er tilfeldig effekt av fisk  $k$  ( $=1, 2, \dots, 20$ ) talt ved telling  $i$  og fra merden  $j$ .

De estimerte varianskomponentene for merden ( $\sigma_M^2$ ) var i de fleste tilfeller svært små i forhold til varianskomponenten for fisk innen merden ( $\sigma_e^2$ ) for alle typer lus og for totalt antall lus (Vedlegg 2).

Hvis varianskomponenten for merden blir satt lik null, kan antall fisk vi må telle med ny metode (og standard) for å kunne påvise en gitt sann økning i antall lus per fisk med ny metode finnes ved hjelp av denne formelen:

$$n = \frac{(Z_\alpha + Z_\beta)^2 \sigma_e^2}{d^2}$$

der

$Z_\alpha$  er avstanden i standardavvik enheter mellom gjennomsnittet av normalfordelinga for  $d_{ijk}$  under  $H_0$  ( $d_{ijk} = 0$ ) og avskjæringspunktet for signifikans nivå  $\alpha=0.05$  (Type I-feil) for en ensidig test,  $Z_\beta$  er avstanden i standardavvik enheter mellom gjennomsnittet av normalfordelinga for  $d_{ijk}$  under  $H_1$  ( $d_{ijk} < 0$ ) og avskjæringspunktet for signifikans nivå  $\beta=0.10$  (Type II-feil, styrke  $1-\beta$ ).

$\sigma_e^2$  er feilvariansen til  $d_{ijk}$ .

#### **4 Hvor stor økning i antall lus per fisk er ønskelig å påvise med en ny tellemetode**

I en kontrollert smittetest mot lus fant Nofima stor forskjell i gjennomsnitt antall fastsittende lus ved tellinga av fisk fra samme merd på to påfølgende dager. Den første dagen med overskyet vær (23.09.2010) ble det funnet i gjennomsnitt 10,0 fastsittende lus per fisk, mens det dagen etter med skyfri himmel og sol ble funnet i gjennomsnitt 15,8 lus per fisk. Ved telling av lus vinterstid kan lysforholdene være vesentlig dårligere enn de var den 23.09.2010, spesielt ved telling tidlig og sent på dagen. På den andre siden er det med de beste tilleggslys (max 4000-5000 lux) ikke mulig å oppnå tilnærmet så ideelle lysforhold som på en dag med sol fra skyfri himmel (60 000 - 80 000 lux; 1 lux=1 lumen/m<sup>2</sup>). Med kunstig tilleggslys må en derfor forvente å få vesentlig mindre enn 58 % økning i antall fastsittende lus per fisk i forhold til dagens standard metode med telling på båt ved merd på en overskyet vinterdag (300-2000 lux) uten tilleggslys. Det samme er nok også tilfelle for bevegelige lus ettersom de ikke er vesentlig større enn de fastsittende lusene. I tillegg kommer at det på mange lokaliteter i dag allerede blir brukt tilleggslys. Og ved telling av voksne holus, som er vesentlig større enn de fastsittende og bevegelige lusene, må en anta at den positive effekten av tilleggslys er mindre enn ved telling av fastsittende og bevegelige lus. For manuell telling av fastsittende og bevegelige lus med et optimalt tilleggslys kan en derfor kanskje ikke forvente å finne mer enn 20-30 % flere lus enn ved telling uten tilleggslys.

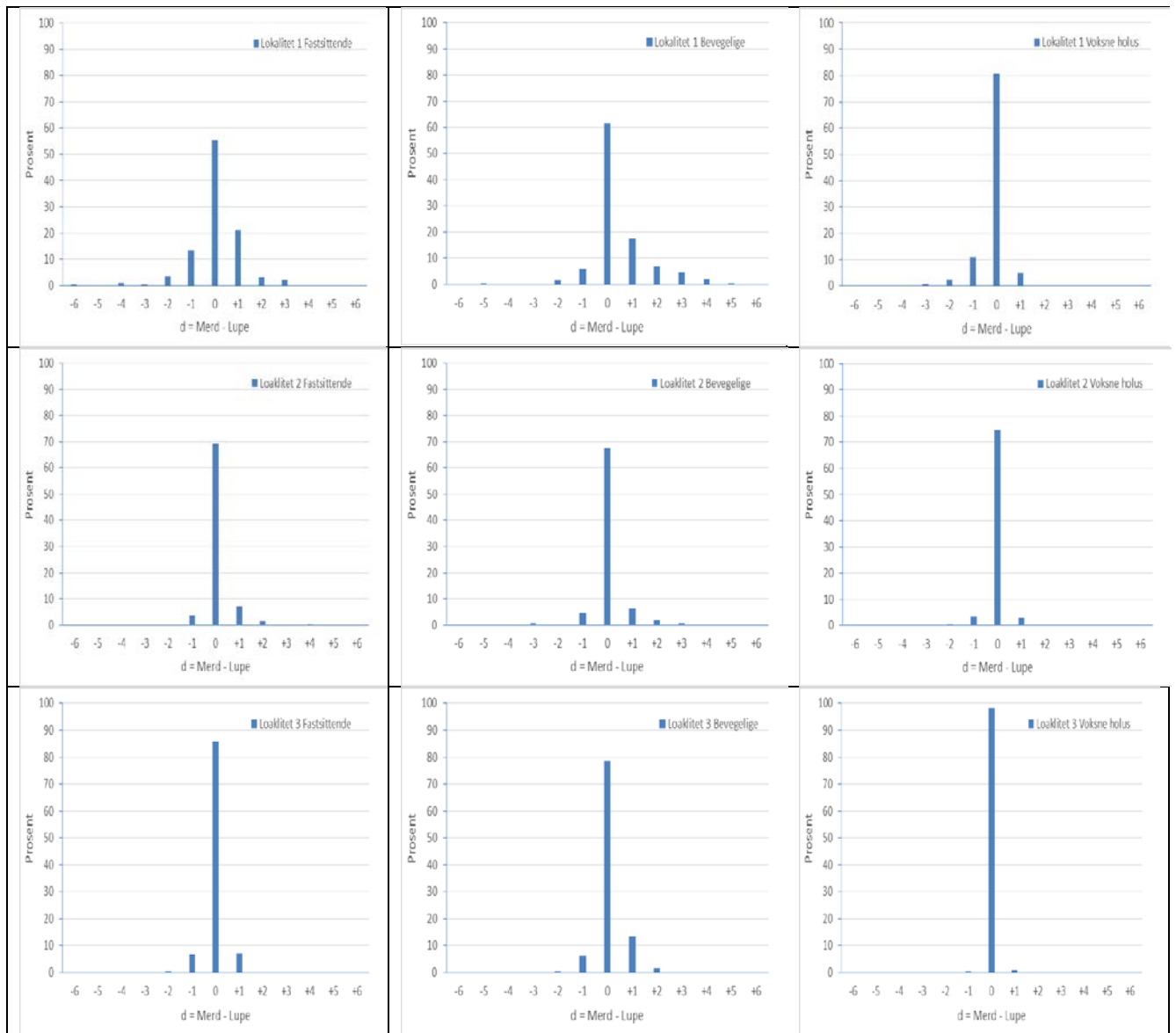
## 5 Resultater

Vedlegg 1 viser beskrivende statistikk for antall fastsittende lus, antall bevegelige lus, antall voksne holus og totalt antall lus på hver av de tre lokalitetene, og for differansen i antall lus av hver type per fisk for telling ved merden og antall lus talt under lupelampen. Som vi ser er variasjonskoeffisienten for differansen mellom antall lus talt ved merden og under lupelampen svært stor, noe som tilsier at en må telle mange fisk må telles for å kunne påvise en gitt sann økning i antall lus per fisk med en ny tellemetode. Figur 1 viser at fordelingen til differansen i antall lus ( $d$ ) har stor overvekt av fisk med  $d=0$ , spesielt for voksne holus.

Grensen for avlusing er i dag gitt ved gjennomsnitt antall voksne holus per fisk ( $<0.5$ ). I gjennomsnitt for de seks tellingene var dette gjennomsnittet under denne grensen for alle de tre lokalitetene; 0.24 for Lokalitet 1, 0.15 for Lokalitet 2 og 0.08 for Lokalitet 3. Figur 5 viser at vi må telle om lag 250 (Lokalitet 3), 435 (Lokalitet 2) og 520 fisk for å kunne påvise en økning på  $\geq 30\%$  voksne holus per fisk med en ny og bedre tellemetode. For å kunne påvise en økning på  $\geq 20\%$  lus må vi telle over 500 fisk på hver av de tre lokalitetene (om lag 570 på Lokalitet 3, 980 på Lokalitet 2, og 1170 på Lokalitet 1).

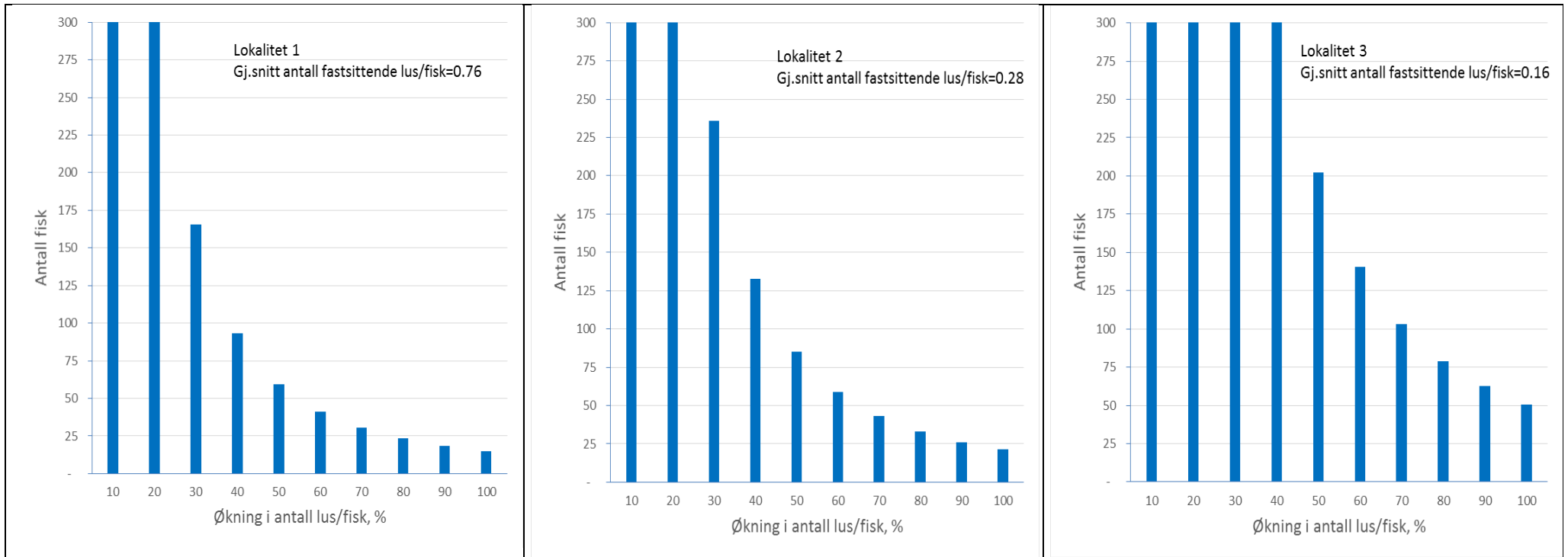
For å kunne sette inn behandling mot lus på rett tidspunkt brukes utviklingen antall fastsittende og bevegelige lus per fisk på lokaliteten. Et mest mulig pålitelig estimat av antall fastsittende og bevegelig lus er derfor viktig. I gjennomsnitt for de seks tellingene var gjennomsnitt antall fastsittende og bevegelige lus 0.76 og 1.33 på Lokalitet 1, 0.28 og 0.48 på Lokalitet 2, og 0.16 og 0,39 på Lokalitet 3. Figur 4 viser at vi må telle omlag 45 (Lokalitet 1), 75 (Lokalitet 2) og 135 (Lokalitet 3) fisk for å kunne påvise en økning i antall fastsittende og bevegelige lus på  $\geq 30\%$  med en bedre metode. For en økning på  $\geq 20\%$  lus er de tilsvarende tallene 100 (Lokalitet 1), 170 (Lokalitet 2) og 305 (Lokalitet 3) fisk, og for en økning på  $\geq 10\%$  lus 390 (Lokalitet 1), 690 (Lokalitet 2) og 1220 (Lokalitet 3) fisk.

I et forsøk der en skal teste en ny tellemetode må en telle de samme fiskene to ganger (både med standard og ny metode), og tre ganger hvis en skal teste to nye metoder. Og siden det kan være relativt store forskjeller mellom personer i gjennomsnitt antall talte lus per fisk, er det viktig å få undersøkt om resultatene for ulike metoder er konsistente over personer. Derfor kan det bli svært mange fisk å telle hvis en skal teste flere nye metoder samtidig, og en ønsker å påvise en relativ beskjeden økning ( $\geq 20-30\%$ ) i antall talte lus per fisk.

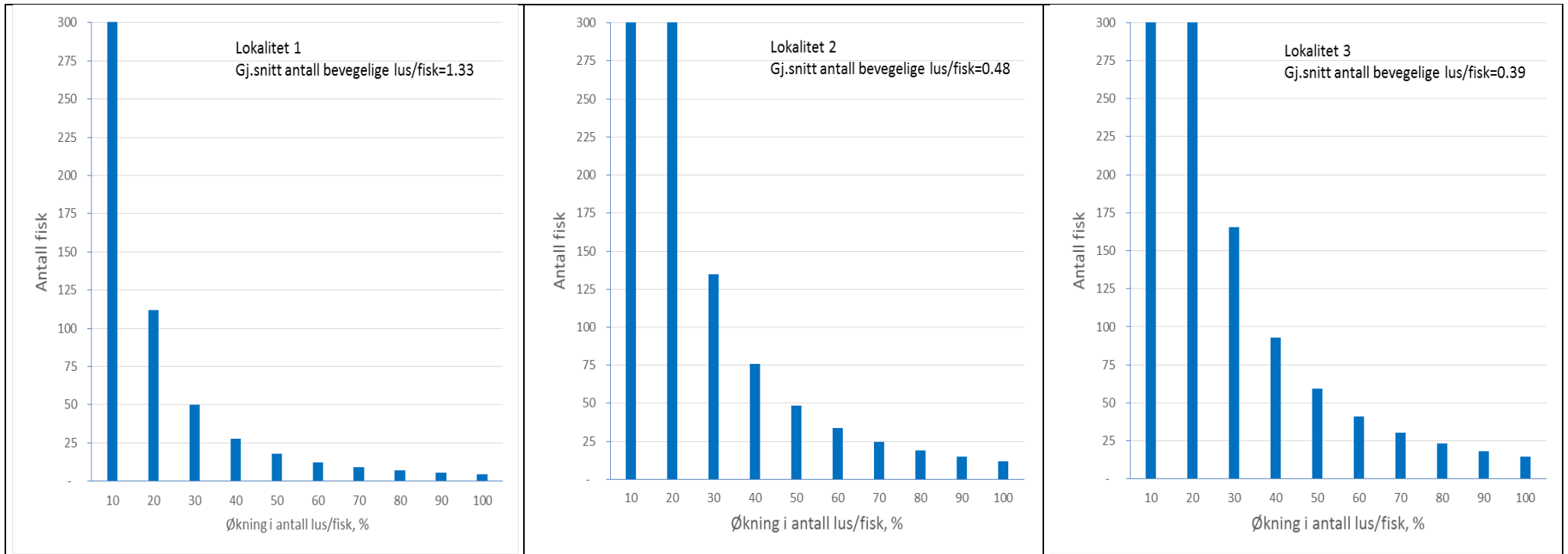


**Figur 1** Fordeling av differansen i antall lus per fisk fra standard telling ved merden og antall lus talt under lupelampen; dvs.  $d = \text{Merd} - \text{Lupe}$  for hver type lus på hver av de tre lokalitetene.

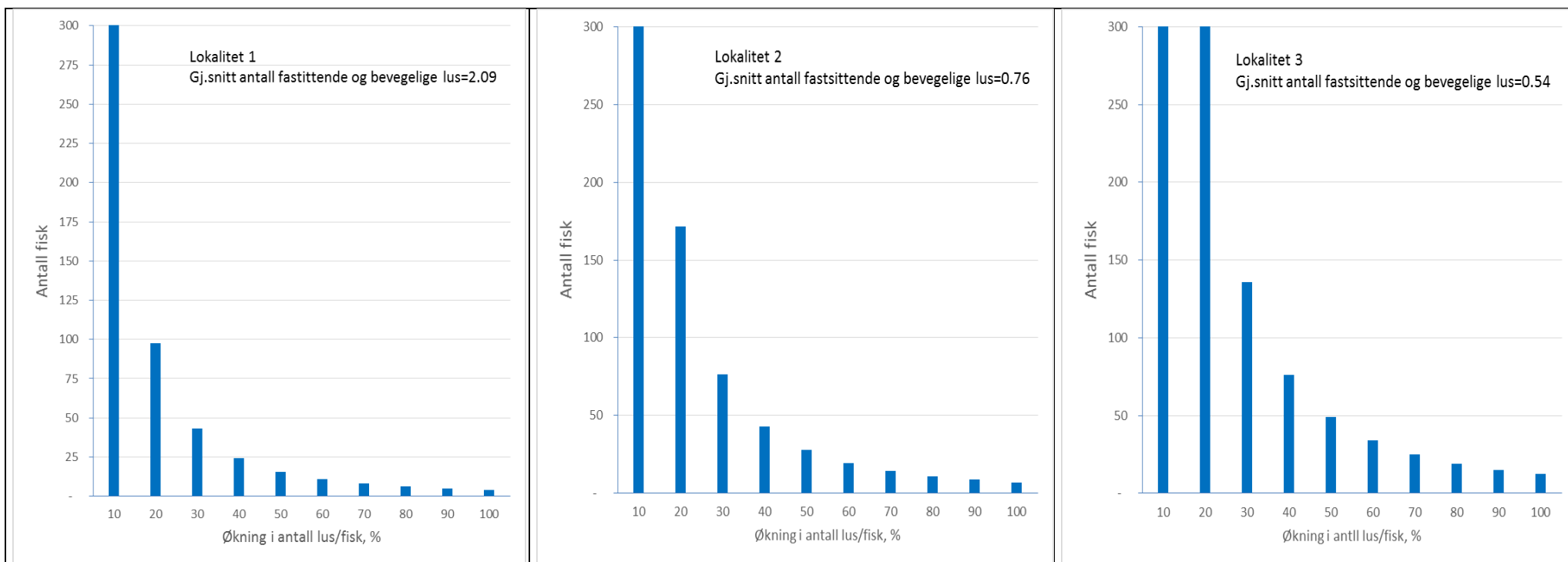




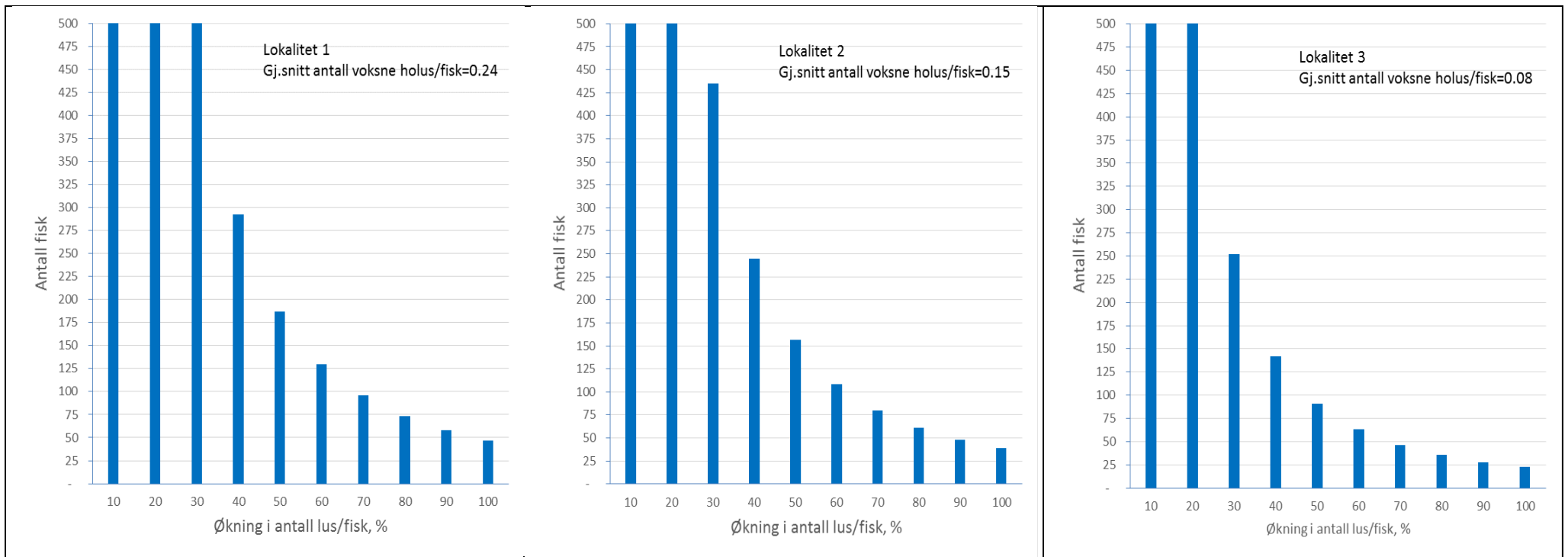
Figur 2 Antall fisk som må telles for å kunne påvise en gitt sann økning (%) i antall fastsittende lus per fisk (ensidig test, type I-feil  $\alpha=0.05$ , styrke  $1-\beta=0.90$ ).



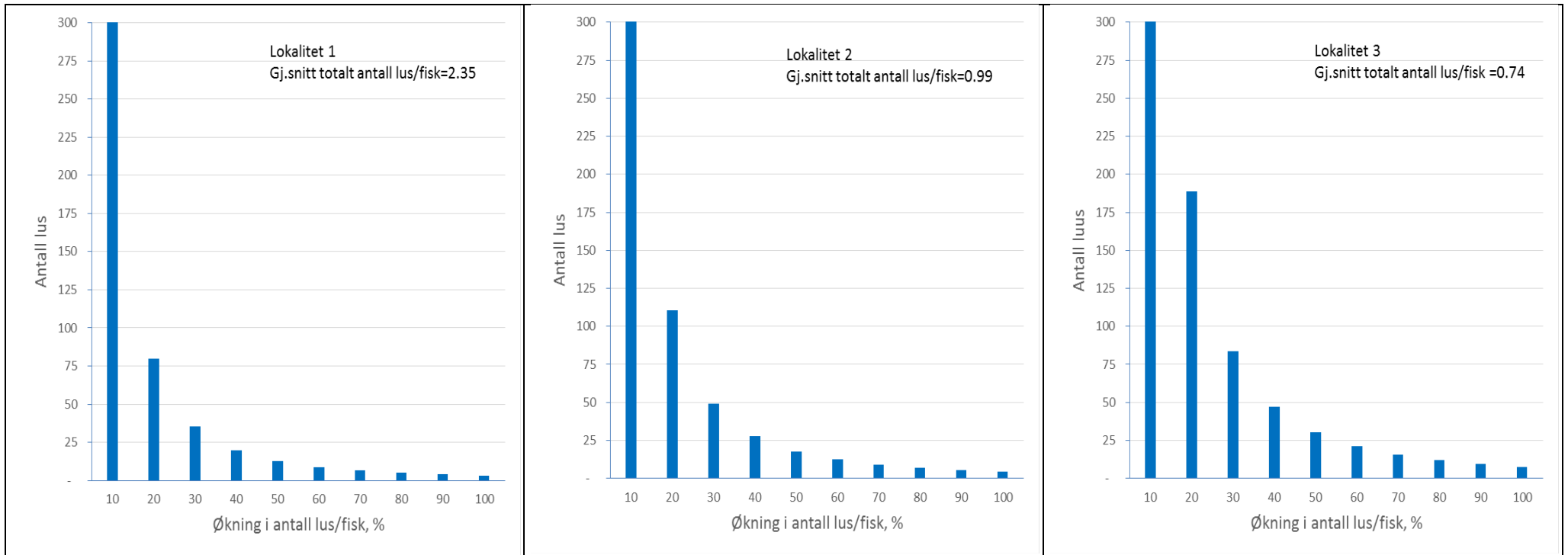
Figur 3 Antall fisk som må telles for å kunne påvise en gitt sann økning (%) i antall bevegelige lus per fisk (ensidig test, type I-feil  $\alpha=0.05$ , styrke  $1-\beta=0.90$ ).



Figur 4 Antall fisk som må telles for å kunne påvise en gitt sann økning (%) i antall fastsittende og bevegelige lus per fisk (ensidig test, type I-feil  $\alpha=0.05$ , styrke  $1-\beta=0.90$ ).



Figur 5 Antall fisk som må telles for å kunne påvise en gitt sann økning (%) i antall voksne holus per fisk (ensidig test, type I-feil  $\alpha=0.05$ , styrke  $1-\beta=0.90$ ). Merk at y-skalaen på denne figuren er ulik den i Figur 2, 3, 4 og 6.



Figur 6 Antall fisk som må telles for å kunne påvise en gitt sann økning (%) i totalt antall lus per fisk (ensidig test, type I-feil  $\alpha=0.05$ , styrke  $1-\beta=0.90$ ).

## Vedlegg 1

Antall talte fisk og gjennomsnitt, standardavvik og variasjonskoeffisient ( $SA*100/gjennomsnitt$ ) for ulike typer lus og totalt antall lus per fisk talt ved merden på hver av de tre lokalitetene, og differansen i antall lus per fisk talt ved merden og antall lus talt under lupelampen

Lokalitet	Type lus	N	Gj.snitt	SA	CV, %
<b>1</b>	Fastsittende	360	0,76	1,15	151
	Bevegelige	360	1,33	2,06	155
	Voksne holus	360	0,24	0,62	259
	Totalt	360	2,35	2,46	105
	d = Fastsittende – Lupe	360	0,07	1,03	1,421
	d = Bevegelige – Lupe	360	0,44	1,11	250
	d = Voksne holus - Lupe	360	-0,14	0,59	-425
	d = Totalt - Lupe	360	0,35	1,46	414
<b>2</b>	Fastsittende	293	0,28	0,67	238
	Bevegelige	293	0,48	0,99	208
	Voksne holus	293	0,15	0,39	253
	Totalt	293	0,99	1,68	169
	d = Fastsittende – Lupe	293	0,09	0,50	558
	d = Bevegelige – Lupe	293	0,06	0,58	947
	d = Voksne holus - Lupe	293	-0,01	0,34	-2,498
	d = Totalt - Lupe	293	0,16	0,78	474
<b>3</b>	Fastsittende	360	0,16	0,41	261
	Bevegelige	360	0,39	0,76	196
	Voksne holus	360	0,08	0,31	395
	Totalt	360	0,74	1,06	143
	d = Fastsittende – Lupe	360	0,00	0,39	-
	d = Bevegelige – Lupe	360	0,10	0,51	513
	d = Voksne holus - Lupe	360	0,01	0,13	2,325
	d = Totalt - Lupe	360	0,14	0,69	509

## Vedlegg 2

Estimerte varianskomponenter for merd ( $\sigma_M^2$ ) og fisk innen merd ( $\sigma_e^2$ ) for differansen (d) i antall fastsittende, bevegelige og voksne holus og totalt antall lus talt ved merden og antall lus talt under lupelampen

d = Standard - Lupe	Lokalitet 1		Lokalitet 2		Lokalitet 3	
	$\sigma_M^2$	$\sigma_e^2$	$\sigma_M^2$	$\sigma_e^2$	$\sigma_M^2$	$\sigma_e^2$
Fastsittende	0,011	0,993	0,037	0,192	0,000	0,150
Bevegelige	0,288	0,916	0,004	0,321	0,002	0,263
Voksne holus	0,040	0,316	0,003	0,103	0,000	0,017
Totalt	0,018	2,040	0,014	0,513	0,000	0,481