

Opphavet til rømt smolt i
Oltesvikbekken i Ryfylke
våren 2008

R
A
P
P
O
R
T

Rådgivende Biologer AS 1168



Rådgivende Biologer AS

RAPPORT TITTEL:

Opphavet til rømt laksesmolt i Oltesvikbekken i Ryfylke våren 2008.

FORFATTERE:

Harald Sægrov og Vidar Wennevik

OPPDRAKSGIVER:

Lyse Energi

OPPDRAGET GITT:

Oktober 2008

ARBEIDET UTFØRT:

Oktober 2008 - februar 2009

RAPPORT DATO:

23. februar 2009

RAPPORT NR:

1168

ANTALL SIDER:

11

ISBN NR:

ISBN 978 82-7658-646-6

EMNEORD:

Rømt laksesmolt
Stamlaks
Årdalsvassdraget

RÅDGIVENDE BIOLOGER AS

Bredsgården, Bryggen, N-5003 Bergen

Foretaksnummer 843667082 - MVA

www.radgivende-biologer.no

Telefon: 55 31 02 78

Telefax: 55 31 62 75

post@radgivende-biologer.no

FORORD

Rådgivende Biologer AS har overvåket forekomst av lakselus på prematurt tilbakevandret postsmolt av sjøaure i 35 bekker/småelver i Rogaland, Hordaland og Sogn og Fjordane 4 ganger vår/sommer hvert år siden 1999. Under overvåkningen blir det fisket med elektrisk fiskeapparat i nedre del av bekkene fra flomålet og oppover (Kålås mfl. 2008).

En av lokalitetene som overvåkes er Oltesvikbekken i Ryfylke. Oltesvikbekken kommer fra Ragsvatnet (37 moh.) og renner en strekning på 350 meter fra vatnet til utløpet i sjøen. Vassdraget er ikke regnet som lakseførende, men det er ved tidligere undersøkelser fanget lakseunger i bekken som utifra utseendet har vært antatt å stamme fra naturlig gyting.

Den 26. mai i 2008 ble det observert lakseunger av smoltstørrelse under elektrofisket i Oltesvikbekken som ble utført av Steinar Kålås og Bjart Are Hellen, Rådgivende Biologer AS. Laksesmoltene manglet fettfinne og hadde ytre karakterer (farge og finneslitasje) som tilsa at den kom fra settefiskanlegg. Det ble der og da avgjort å ta med 9 av laksesmoltene for eventuell videre analyse av fisken. Etter kontakt med Miljøvernavdelingen, Fylkesmannen i Rogaland, ble det opplyst at det blir produsert laksesmolt i et settefiskanlegg i Oltesvik.

Lyse Energi AS er ved konsesjon forpliktet til å sette ut 11 500 laksesmolt årlig av stedefgen stamme i Årdalsvassdraget. Denne smolten blir produsert i Oltesvik og stamfisken er villaks som er fanget om høsten i Årdalsvassdraget. Lyse Energi AS ønsket å få bekreftet eller avkreftet om laksesmoltene som ble fanget i Oltesvik i mai 2008 kunne stamme fra settefiskanlegget i Oltesvik. Hvis smolten stammet derfra måtte den være avkom fra stamlaksen som ble fanget i Årdalsvassdraget høsten 2006. Skjellprøver fra all stamlaks som blir brukt til kultiveringsformål i Norge blir rutinemessig analysert og lagret ved Veterinærinstituttet, som også godkjenner hvilke laks som kan brukes. Skjellprøvene fra godkjent stamlaks fra Årdalsvassdraget i 2006 ble stilt til disposisjon for genetisk analyse.

Havforskningsinstituttet i Bergen fortok DNA-analyser av skjellprøver fra stamlaks fra Årdal i 2006 og av vevsprøver fra laksesmoltene som ble fanget i Oltesvikbekken i mai 2008 for å avklare eventuelt slektskapsforhold mellom fiskene.

Rådgivende Biologer AS og Havforskningsinstituttet takker Lyse Energi AS for oppdraget.

Bergen, 23. februar 2009.

INNHold

Forord	2
Innhold	2
Sammendrag	3
1 METODER	4
2 Resultater	6
3 Referanser	11

SAMMENDRAG

SÆGROV, H. & V. WENNEVIK 2009. Opphavet til rømt laksesmolt i Oltesvikbekken i Ryfylke våren 2008. Rådgivende Biologer AS. Rapport 1168, 11 sider.

I forbindelse med undersøkelser av lakselus på prematur tilbakevandret sjøaure ble det i Oltesvikbekken i Ryfylke den 26. mai i 2008 registrert lakseunger av smoltstørrelse som var fettfinneklipt og som hadde ytre tegn på at de stammet fra et settefiskanlegg. Ni av laksesmoltene ble tatt med for eventuell videre analyse.

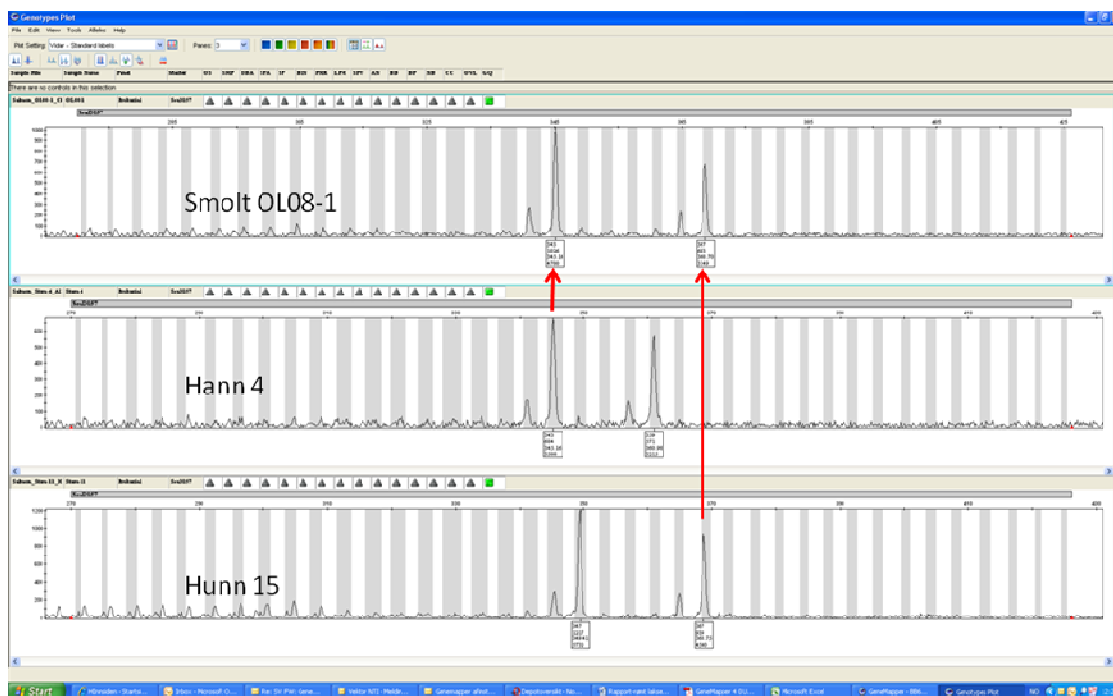
Lyse Energi AS er ved konsesjon forpliktet til å sette ut 11 500 laksesmolt årlig av stedefegen stamme i Årdalsvassdraget. Denne smolten blir produsert i Oltesvik og stamfisken er villaks som er fanget om høsten i Årdalsvassdraget. Lyse Energi AS ønsket å få bekreftet eller avkreftet om laksesmolten som ble fanget i Oltesvikbekken i mai 2008 kunne stamme fra settefiskanlegget i Oltesvik. Hvis smolten stammet derfra måtte den være avkom fra stamlaksen som ble fanget i Årdalsvassdraget høsten 2006.

Havforskningsinstituttet i Bergen fortok DNA-analyser av skjellprøver fra stamlaks fra Årdal i 2006 og av vevsprøver fra laksesmolten som ble fanget i Oltesvikbekken i mai 2008 for å avklare eventuelt slektskapsforhold mellom fiskene.

Analysene som er gjennomført viser at laksesmoltene som ble fanget i Oltesvikbekken den 26. mai 2008 kom fra settefiskanegget i Oltesvik siden smolten i anlegget kommer fra stamlaks fra Årdalsvassdraget.

1 METODER

Smolt og stamfisk ble undersøkt for genetisk variasjon i 18 genetiske markører, såkalte mikrosatelitter. Mikrosatelitter er områder på DNA-tråden hvor et motiv, gjerne 2-4 basepar langt repeteres et antall ganger (for eksempel GAGAGA...). Antallet repetisjoner varierer mellom individer og gir opphav til såkalt polymorfi i disse genmarkørene. I et individ vil det være to kopier av hver mikrosatellitt, en på hvert kromosom i et kromosompar, og antall repetisjoner av motivet kan være lik (homozygot) eller forskjellig (heterozygot) mellom de to kromosomene. Siden et individ arver et kromosom fra far, og ett fra mor, vil de to variantene av mikrosatelitten i individet være blant de fire variantene som finnes hos foreldrene (med mindre det har skjedd en mutasjon, noe som er svært sjeldent). Slike markører benyttes derfor til såkalt DNA-fingerprinting, og er den mest benyttede metode i f.eks farskapstester. For å oppnå en sikker bestemmelse av slektskap benyttes det flere mikrosatelitter. Hvor mange som er nødvendig for en sikker bestemmelse avhenger av hvor variable mikrosatellittene er, og hvor forskjellige potensielle foreldre er. En sikker identifikasjon oppnås ofte med så lite som fire mikrosatelitter. I denne sammenhengen ble det benyttet 18 mikrosatelitter i analysen av stamfisk og smolt.



Figur 1.1. Alleler i én mikrosatellitt i smolt (øverst), og i sannsynlige foreldre. Smolten er heterozygot og har fått ulike alleler fra de to foreldrene.

For å analysere mikrosatelitter lager man såkalte primere, som er korte DNA-fragmenter som er komplementære til områder på DNA-tråden i forkant og bakkant til mikrosatelitten. Disse vil binde seg til riktig sted på DNA-tråden i en såkalt Polymerase Chain Reaction (PCR). Gjennom syklisk PCR kan man få kopiert opp det området av DNA-tråden som inneholder mikrosatelitten millioner av ganger til man har fått store nok mengder av den til å bestemme størrelsen. Størrelsen bestemmes som regel gjennom analyse på automatiske sekvenseringsmaskiner, og for hvert individ får man da to tall (alleler) som representerer størrelsen av mikrosatelitten i de to kromosomene i et par (se **figur 1.1**). Selve bestemmelsen skjer ved at primerne som benyttes i PCR er merket med et fluorochrom som

detekteres på sekvenseringsmaskinen i det fragmentet gjennom elektroforese passerer en laser og en fotocelle.

DNA ble isolert fra finneklipp av laksesmolt fra Oltesvikbekken, og skjellprøver av stamfisk med Qiagen DNeasy 96 Blood & Tissue Kit i henhold til fabrikantens prosedyre. Det ble benyttet 30-50 mg finnevev, og 3-4 tørkede skjell. I alt 18 mikrosatelitter ble amplifisert ved PCR (Polymerase Chain Reaction), i tre ulike multiplex, og PCR-produktet ble analysert på en Applied Biosystems 3730XL sekvenseringsmaskin. Fragmentstørrelser ble bestemt ved hjelp av programmet GeneMapper 4.0.

2 RESULTATER

2.1 Smolt fra Oltesvikbekken

Alle laksesmoltene som ble fanget i Oltesvikbekken var fettfinneklipt. Gjennomsnittslengden var 147,1 mm og gjennomsnittsvekten var 31,6 gram. Gjennomsnittlig kondisjonsfaktor var 1,025, som er vanlig for utsatt smolt, villsmolt har normalt noe lavere kondisjonsfaktor. To av fiskene hadde betydelig høyere kondisjonsfaktor enn de andre og dette skyldes deformitet i ryggstøylen, og forkortet bakkropp, noe som ikke er uvanlig blant settefisk. Alle fiskene hadde finneskader som tilsa at de stammet fra et settefiskanlegg. I materialet var det 3 hunner og 6 hanner, ingen av fiskene var kjønnsmodne.



Figur 2.1. Nedre del av Oltesvikbekken i Oltesvik der det ble elektrofisket 26. mai 2008. Karene der det produseres smolt kan skimtes bak broen i øvre billedkant. UTM referanse: LL 340 271

Tabell 2.1. Lengde, vekt, kondisjonsfaktor, kjønn, stadium og skade på 9 fettfinneklippede laksesmolt som ble fanget med elektrisk fiskeapparat i Oltesvikbekken i Ryfylke den 26. mai 2008.

Fisk nr	Art	Lengde, mm	Vekt, gram	Kondisjonsfaktor	Kjønn	Stadium	Finneskader/defromiteter
1	Laks	162	33,8	0,795	Hunn	1	Ryggfinne
2	Laks	109	21,0	1,622	Hann	1	Brystfinne. Ryggdeformitet
3	Laks	133	30,2	1,284	Hann	1	Ryggdeformitet
4	Laks	159	40,2	1,000	Hann	1	Ryggfinne
5	Laks	147	30,0	0,944	Hunn	1	Ryggfinne
6	Laks	154	31,4	0,860	Hann	1	Ryggfinne
7	Laks	160	35,0	0,854	Hunn	1	Ryggfinne
8	Laks	157	32,1	0,829	Hann	1	Ryggfinne og brystfinner
9	Laks	143	30,4	1,040	Hann	1	Ryggfinne, gjellelokk
Snitt		147,1	31,6	1,025			

2.2 Stamlaks fanget i Årdalsvassdraget i 2006

Det ble analysert prøver fra 11 laks som var godkjent av Veterinærinstituttet som stamfisk, og som var fanget i Årdalsvassdraget i Ryfylke høsten 2006. Av disse fiskene var det 5 hunner og 6 hanner, og avkommet fra fiskene ble foret fram til smolt i settefiskanlegget i Oltedal i løpet av 2007 og 2008.

2.3 Genetiske analyser

DNA isolat fra både skjell og finneklipp var av god kvalitet og i tilstrekkelige mengder for de genetiske analysene. Av totalt 18 mikrosatelitter x 20 individer ble det oppnådd sikker scoring av allel størrelser i 359 av 360 analyser, dvs. én mikrosatelitt i ett individ lot seg ikke bestemme med sikkerhet.

Variasjonen i alleler i stamfisken var god. Totalt ble det funnet 148 ulike alleler i stamfiskene. En mikrosatelitt (SsaD486) var monomorf (samme allel i alle fisk), og derfor uten informasjon i denne sammenheng. I de andre mikrosatelittene varierte antall alleler fra 3 til 14, med et gjennomsnitt på 8,6.

Allel størrelser for smolten ble satt opp i en tabell, og for hvert enkelt individ ble disse sammenliknet mot allel størrelsene i samme mikrosatelitt i potensielle foreldrefisk. Sammenlikningen ble gjennomført for alle 18 mikrosatelitter. Et utdrag av den totale tabellen er presentert i tabell 2.2. I tabellen er det illustrert med fargebruk hvilke hunnfisk og hvilke hannfisk som er potensielle foreldre til ett individ. Mulige foreldre er merket med grønt, og foreldre uten match i alleler er merket med rødt. For de fleste individene var bestemmelsen av far og mor mer entydig etter sammenlikning av 2-4 mikrosatelitter. For å bekrefte resultatet ble likevel sammenlikningen gjennomført for alle 18 mikrosatelitter. I alle tilfeller hvor far/mor var bestemt av de første 2-4 mikrosatelitter, ble resultatet bekreftet av de resterende mikrosatelittene. For to av individene, merket OL08-5 og OL08-9, var det ikke mulig å finne to foreldre i det analyserte stamfiskmaterialet. For OL08-5 kunne det entydig bestemmes at den var avkom av hunnfisk merket Stam-13, men ingen mulig far var representert i det mottatte skjellmaterialet av stamfiskene. For OL08-9 var verken mor eller far representert. Det kan derfor synes som om det er benyttet minst to stamfisk som det ikke er analysert prøver av.

Tabell 2.2. Allelstørrelser for smolten innsamlet i Oltesvikbekken den 26. mai 2008 sammenliknet individuelt mot allelstørrelsene i samme mikrosatelitt i potensielle foreldrefisk som var stamlaks fanget i Årdalsvassdraget høsten 2006. Mulige foreldre er merket med grønt, og foreldre uten match i alleler er merket med rødt. Utdrag fra totaltabell.

	Fisk nr.	SSsp2201		SSsp2210		SSspG7		Ssa202				
	OL08-1	279	331	132	144	139	143	238	238			
Hann	Stam-1	311	347	132	152	135	143	238	246			
	Stam-2	299	315	124	144	131	183	238	270			
	Stam-3	299	339	132	132	155	163	238	262			
	Stam-4	303	331	Stam-4	144	148	Stam-4	127	139	Stam-4	238	258
	Stam-5	283	283		124	144		143	171		238	246
	Stam-7	255	279	Stam-7	132	136	Stam-7	135	143	Stam-7	246	246
Hunn	Stam-11	299	331	Stam-11	124	132	Stam-11	171	183		238	238
	Stam-12	283	327		124	148		131	135		242	270
	Stam-13	283	311		124	160		135	139		246	246
	Stam-14	263	275		128	148		159	171		258	258
	Stam-15	279	287	Stam-15	124	132	Stam-15	143	143	Stam-15	238	246
	OL08-2	283	339	132	148	135	155	238	242			
Hann	Stam-1	311	347	132	152	135	143	238	246			
	Stam-2	299	315	124	144	131	183	238	270			
	Stam-3	299	339	Stam-3	132	132	Stam-3	155	163	Stam-3	238	262
	Stam-4	303	331		144	148		127	139		238	258
	Stam-5	283	283	Stam-5	124	144		143	171		238	246
	Stam-7	255	279		132	136		135	143		246	246
Hunn	Stam-11	299	331		124	132		171	183		238	238
	Stam-12	283	327	Stam-12	124	148	Stam-12	131	135	Stam-12	242	270
	Stam-13	283	311	Stam-13	124	160		135	139		246	246
	Stam-14	263	275		128	148		159	171		258	258
	Stam-15	279	287		124	132		143	143		238	246
	OL08-3	299	315	124	144	131	171	238	270			
Hann	Stam-1	311	347	132	152	135	143	238	246			
	Stam-2	299	315	Stam-2	124	144	Stam-2	131	183	Stam-2	238	270
	Stam-3	299	339	Stam-3	132	132		155	163		238	262
	Stam-4	303	331		144	148		127	139		238	258
	Stam-5	283	283		124	144		143	171		238	246
	Stam-7	255	279		132	136		135	143		246	246
Hunn	Stam-11	299	331	Stam-11	124	132	Stam-11	171	183	Stam-11	238	238
	Stam-12	283	327		124	148		131	135		242	270
	Stam-13	283	311		124	160		135	139		246	246
	Stam-14	263	275		128	148		159	171		258	258
	Stam-15	279	287		124	132		143	143		238	246

Tabell 2.2. forts

	Fisk nr.	SSsp2201		SSsp2210		SSspG7		Ssa202				
	OL08-4	275	283		124	128		143	159		238	258
Hann	Stam-1	311	347		132	152		135	143		238	246
	Stam-2	299	315		124	144		131	183		238	270
	Stam-3	299	339		132	132		155	163		238	262
	Stam-4	303	331		144	148		127	139		238	258
	Stam-5	283	283	Stam-5	124	144	Stam-5	143	171	Stam-5	238	246
	Stam-7	255	279		132	136		135	143		246	246
Hunn	Stam-11	299	331		124	132		171	183		238	238
	Stam-12	283	327	Stam-12	124	148	Stam-12	131	135		242	270
	Stam-13	283	311	Stam-13	124	160	Stam-13	135	139		246	246
	Stam-14	263	275	Stam-14	128	148	Stam-14	159	171	Stam-14	258	258
	Stam-15	279	287		124	132		143	143		238	246
		OL08-5	295	311		128	160		127	139		242
Hann	Stam-1	311	347	Stam-1	132	152		135	143		238	246
	Stam-2	299	315		124	144		131	183		238	270
	Stam-3	299	339		132	132		155	163		238	262
	Stam-4	303	331		144	148		127	139		238	258
	Stam-5	283	283		124	144		143	171		238	246
	Stam-7	255	279		132	136		135	143		246	246
Hunn	Stam-11	299	331		124	132		171	183		238	238
	Stam-12	283	327		124	148		131	135		242	270
	Stam-13	283	311	Stam-13	124	160	Stam-13	135	139	Stam-13	246	246
	Stam-14	263	275		128	148		159	171		258	258
	Stam-15	279	287		124	132		143	143		238	246
	OL08-6	287	331		132	144		127	143		238	258
Hann	Stam-1	311	347		132	152		135	143		238	246
	Stam-2	299	315		124	144		131	183		238	270
	Stam-3	299	339		132	132		155	163		238	262
	Stam-4	303	331	Stam-4	144	148	Stam-4	127	139	Stam-4	238	258
	Stam-5	283	283		124	144		143	171		238	246
	Stam-7	255	279		132	136		135	143		246	246
Hunn	Stam-11	299	331	Stam-11	124	132	Stam-11	171	183		238	238
	Stam-12	283	327		124	148		131	135		242	270
	Stam-13	283	311		124	160		135	139		246	246
	Stam-14	263	275		128	148		159	171		258	258
	Stam-15	279	287	Stam-15	124	132	Stam-15	143	143	Stam-15	238	246

Tabell 2.2. forts.

Fisk nr.	SSsp2201		SSsp2210		SSspG7		Ssa202					
OL08-7	279	303	132	148	139	143	238	238				
Hann	Stam-1	311	347	132	152	135	143	238	246			
	Stam-2	299	315	124	144	131	183	238	270			
	Stam-3	299	339	132	132	155	163	238	262			
	Stam-4	303	331	Stam-4	144	148	Stam-4	127	139	Stam-4	238	258
	Stam-5	283	283		124	144		143	171		238	246
	Stam-7	255	279	Stam-7	132	136	Stam-7	135	143	Stam-7	246	246
Hunn	Stam-11	299	331		124	132		171	183		238	238
	Stam-12	283	327		124	148		131	135		242	270
	Stam-13	283	311		124	160		135	139		246	246
	Stam-14	263	275		128	148		159	171		258	258
	Stam-15	279	287	Stam-15	124	132	Stam-15	143	143	Stam-15	238	246
OL08-8	299	331	132	144	131	171	238	238				
Hann	Stam-1	311	347		132	152		135	143		238	246
	Stam-2	299	315	Stam-2	124	144	Stam-2	131	183	Stam-2	238	270
	Stam-3	299	339	Stam-3	132	132	Stam-3	155	163		238	262
	Stam-4	303	331	Stam-4	144	148	Stam-4	127	139		238	258
	Stam-5	283	283		124	144		143	171		238	246
	Stam-7	255	279		132	136		135	143		246	246
Hunn	Stam-11	299	331	Stam-11	124	132	Stam-11	171	183	Stam-11	238	238
	Stam-12	283	327		124	148		131	135		242	270
	Stam-13	283	311		124	160		135	139		246	246
	Stam-14	263	275		128	148		159	171		258	258
	Stam-15	279	287		124	132		143	143		238	246
OL08-9	283	303		132	152		131	151		238	242	
Hann	Stam-1	311	347		132	152		135	143		238	246
	Stam-2	299	315		124	144		131	183		238	270
	Stam-3	299	339		132	132		155	163		238	262
	Stam-4	303	331	Stam-4	144	148		127	139		238	258
	Stam-5	283	283	Stam-5	124	144		143	171		238	246
	Stam-7	255	279		132	136		135	143		246	246
Hunn	Stam-11	299	331		124	132		171	183		238	238
	Stam-12	283	327	Stam-12	124	148		131	135		242	270
	Stam-13	283	311	Stam-13	124	160		135	139		246	246
	Stam-14	263	275		128	148		159	171		258	258
	Stam-15	279	287		124	132		143	143		238	246

2.4 Konklusjon

Bestemmelsen av foreldre til smolten som ble innsamlet i Oltesvikbekken den 26. mai 2008 er entydig og praktisk talt uten usikkerhet med slik variasjon i genetisk sammensetning av stamfisken fra Årdalsvassdraget, og med bruk av slike høyvariable genetiske markører. Sannsynligheten for annet opphav til de analyserte smoltene er tilnærmet lik null. Med unntak av OL08-5 og OL08-9, var alle allelene i smolten representert i stamfisken, selv om de 148 allelene som finnes i den foreliggende stamfisken representerer godt under halvparten av variasjonsbredden i disse mikrosatelittene i norsk villaks. For ytterligere å understreke dette kan det nevnes at én av stamfiskene hadde et ytterst sjeldent allel i en av mikrosatelittene (allel 142 i Ssa14). Dette allelet forekommer i under 0,5 % av annen vill laks vi har undersøkt i Norge (over 6000 individ). Dette allelet fantes også i en av smoltene fanget i Oltesvikbekken.

Analysene som er gjennomført viser uten tvil at laksesmoltene som ble fanget i Oltesvikbekken den 26. mai 2008 kom fra settefiskanegget i Oltesvik fordi dette anlegget produserer smolt fra stamlaks fra Årdalsvassdraget.

3 REFERANSER

KÅLÅS, S., K. URDAL & H. SÆGROV 2008. Overvaking av lakselusinfeksjonar på tilbakevandra sjøaure i Rogaland, Hordaland og Sogn & Fjordane sommaren 2008. Rådgivende Biologer AS, rapport nr. 1154, 42 sider.