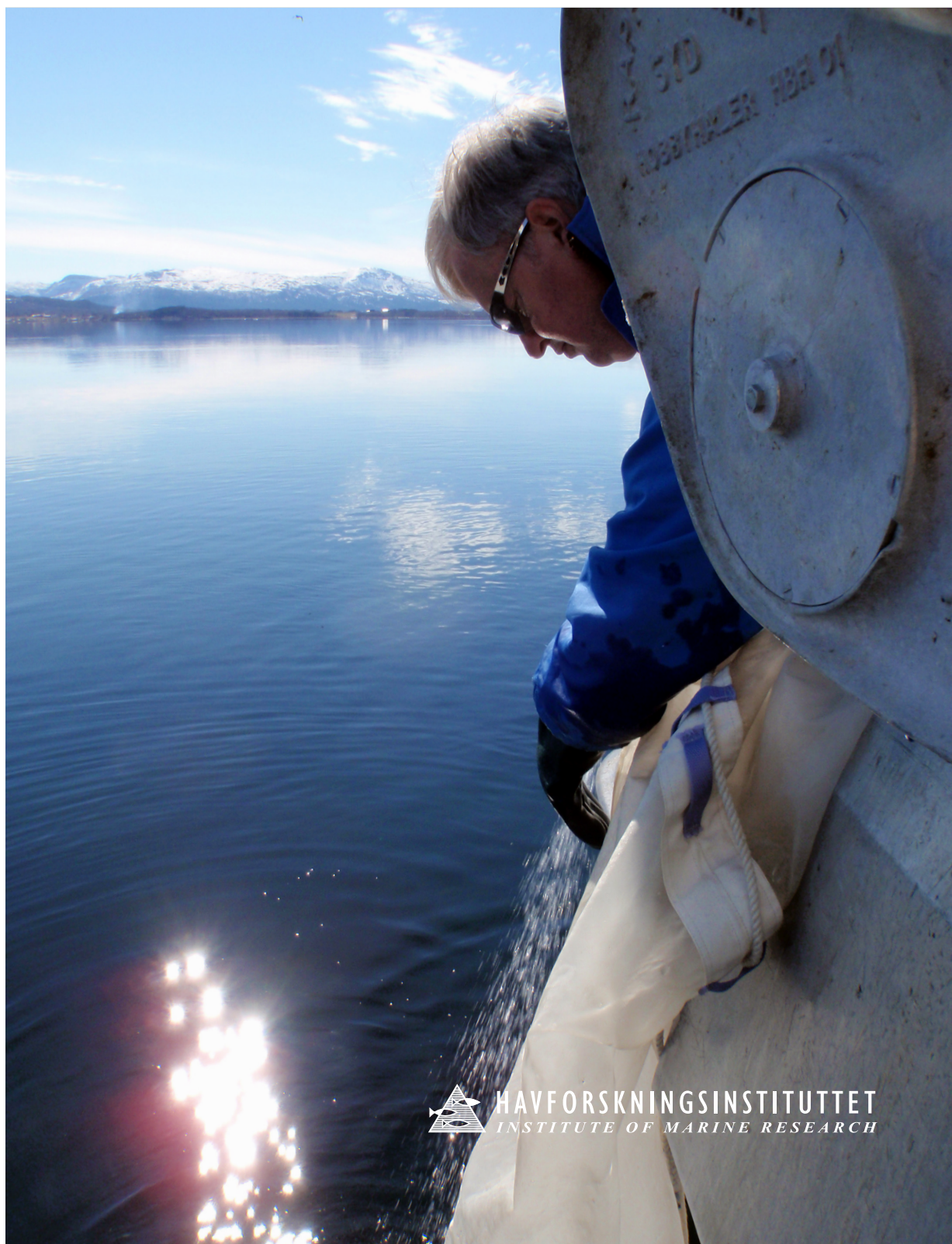


## Genetiske studier av torsk i Skjerstadvfjorden, Nordland

Geir Dahle og Terje van der Meeren





# Genetiske studier av torsk i Skjerstadjorden, Nordland

---

Geir Dahle og Terje van der Meeren

## Sammendrag

Havforskningsinstituttet fikk høsten 2010 i oppdrag fra Fiskeridirektoratet å gjennomføre en omfattende utredning av oppdrettet torsk sin innflytelse på vill torsk for å vurdere mulige effektindikatorer i forbindelse med rømming fra oppdrettsanlegg. Dette gjaldt både påvirkning fra gyting i merd og effekter av konkrete rømminger. I denne forbindelse ble Havforskningsinstituttet bedt om å gjennomføre en vitenskapelig undersøkelse, med spesielt fokus på Skjerstadjorden i Nordland.

Denne rapporten presenterer det arbeidet som ble gjennomført i Skjerstadjorden høsten 2010 og våren 2011. For å få et helhetlig bilde av situasjonen i fjordsystemet, ble prøver tatt på gytefelt i Skjerstadjorden i 2004 og 2005, i tillegg til en prøve samlet inn av Fiskeridirektoratet i 2009 fra et oppdrettsanlegg i fjorden, inkludert i analysene.

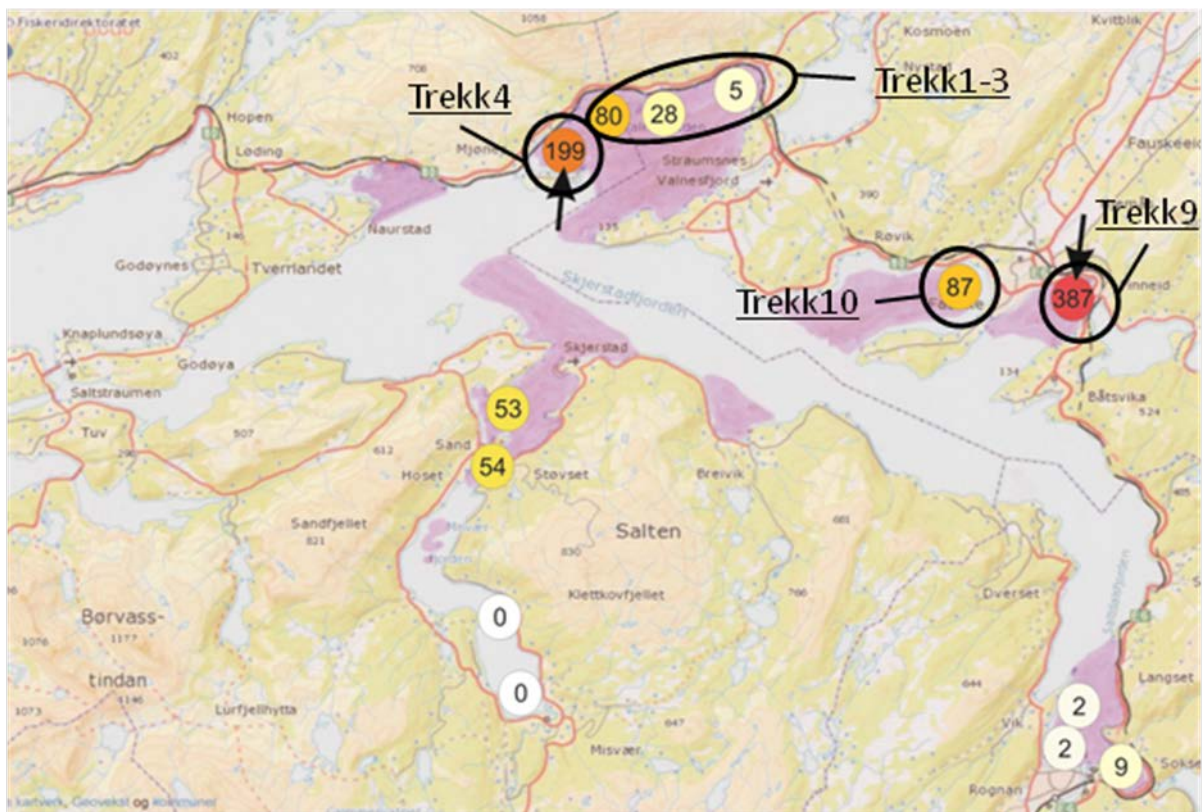
De første oppdrettskonsesjonene ble gitt i 2007, og man kan derfor anta at det ikke har vært satt ut oppdrettsfisk i merd av betydning i fjorden før 2008. Den siste oppdrettsfisken ble slaktet ut desember 2010.

Det ble funnet signifikant forskjell mellom oppdrettsfisken og villfisken i området, mens prøver tatt av gytefisk i 2011 ikke er forskjellig fra gytefisk fanget inn før oppdrett ble etablert i fjorden (2004 og 2005). Det er heller ikke mulig å påvise tilstedeværelse av oppdrettstorsk i fjorden utenom gytesesongen med genetiske metoder, og analysene viser ingen tegn til innblanding av oppdrettsfisk i yngelen produsert på gytefeltet i 2011.



## Innledning

Skjerstadvjorden er en treskelfjord som ligger innenfor Saltstraumen (Figur 1) i Nordland fylke. Fjorden har i mange år vært et interessant studieobjekt, ikke minst på grunn av den trange og grunne forbindelsen til havet utenfor – Saltstraumen; miljøundersøkelser (Skreslet 1996, 2002), sirkulasjonsstudier (Eliassen et al. 2001) og studie av vannmiljø og hydrodynamikk (Aas og Sæther 2008). Skjerstadvjorden trekkes av Havforskningsinstituttet frem som en av tre norske fjorder med en spesiell og sårbar torskestamme, og det eksisterer flere kjente gyteområder (Figur 1). Den første konsesjonen for torskeoppdrett ble gitt i 2007 (pers kom, Fiskeridirektoratet), og det siste torskeoppdrettsanlegget ble slaktet ut i desember 2010. Ettersom det ikke var rapporteringsplikt de første årene har Fiskeridirektoratet verken oversikt over tidspunkt for første utsett eller mengde fisk satt ut, men det synes riktig å anta at oppdrettsvirksomheten i fjordsystemet har vart i tre år (2008–2010).



**Figur 1.** Prøvetakingsområdet Skjerstadvjorden. Stasjoner i forbindelse med innsamling av larver, første uke i mai 2011. Tallene angir antall larver samlet på lokaliteten. Lilla merkede felter er kjente gyteplasser for torsk i fjordsystemet (kilde: Jan O. Stokland, Gunnar Jensen, Gunnar Johannessen, Petter Kristiansen).

I forbindelse med kartlegging av kysttorsk langs hele norskekysten gjennomførte Havforskningsinstituttet i tidsrommet 2002 til 2007 en omfattende innsamling av prøver av gytefisk på ulike utpekte gyteplasser (informasjon fra lokale fiskere), fra Smørfjorden i nord til Oslofjorden og Hvaler i sørøst. Samtidig ble det også tatt to prøver fra gytefelt i Skjerstadvjorden (2004 og 2005).

I juni 2010 fikk Havforskningsinstituttet i oppdrag av Fiskeridirektoratet å gjennomføre en omfattende utredning av oppdrettet torsk sin innflytelse på vill torsk. Hensikten var i første rekke å vurdere mulige effektindikatorer. Instituttet ble i denne forbindelse bedt om å gjennomføre en vitenskapelig undersøkelse for å vurdere mulig effekt av konkrete rømminger, med spesiell fokus på Skjerstadvfjorden i Nordland. Det ble derfor gjennomført innsamling av ulike prøver i området fra høsten 2010 til våren 2011. Det ble tatt prøver både i og utenfor gytesesongen, i tillegg til at det ble gjennomført håvtrekk for å studere den yngelen som ble produsert under gyteperioden våren 2011.

Det er tidligere vist at det ved å bruke genetiske metoder er mulig å identifisere rømt oppdrettstorsk til oppdretter og merd (Glover et al. 2010). I tillegg til innsamlet vill torsk fikk instituttet tilsendt en prøve fra Fiskeridirektoratet som var tatt i et oppdrettsanlegg i Skjerstadvfjorden høsten 2009.

## **Materiale og metoder**

Prøver av gytefisk i Skjerstadvfjorden, nærmere bestemt Valnesfjorden, ble samlet inn i 2004, 2005 og 2011. Dette ble gjort enten ved bruk av egen båt (FF "Fangst") eller ved prøvetaking fra fangster av lokale fiskere. Høsten 2010 ble det, i samarbeid med lokale fiskere, samlet inn prøver av fisk fanget i Valnesfjorden og Saltdalsfjorden (Figur 1). Våren 2011 ble det ved bruk av håvtrekk samlet inn larver og yngel på ulike lokaliteter i fjorden (Figur 1). I tillegg er det i analysene inkludert en prøve av oppdrettsfisk fra ett oppdrettsanlegg i fjorden. Denne ble samlet inn av Fiskeridirektoratet høsten 2009 i forbindelse med annen undersøkelse ved Havforskningsinstituttet. Totalt er det analysert 937 individer. En del individer samlet inn høsten 2010 gav imidlertid ikke DNA ved ekstraksjon og er derfor ikke inkludert i analysene.

Alle prøvene besto av finnebiter lagt på 96 % Etanol, og disse ble fraktet til Havforskningsinstituttet i Bergen hvor DNA ble isolert ved en HotSHOT-metode (Truett et al 2000). Det ble i tillegg gjennomført en mer omstendelig DNA-ekstraksjon for prøver tatt høsten 2010, da disse ikke ga noe resultat med HotSHOT-metoden, men selv ikke Qiagen-isolering gav resultater. Larvene fra hver stasjon ble telt og lagt på ett glass fylt med 96% Etanol. Antall larver varierte mellom stasjonene (Figur 1). Alle individene ble genotypet ved bruk av mikrosatellitter. Med unntak av oppdrettsfisken, som bare ble analysert med 10 mikrosatellittmarkører, er alle individene analysert med 19 mikrosatellitter (Gmo2, Gmo3, Gmo8, Gmo19, Gmo34, Gmo35, Gmo37, Gmo132, GmoC18, GmoC20, GmoG13, GmoG18, GmoG25, GmoG40, GmoG43, GmoG45, Tch11, Tch12, Tch22) i tillegg til en markør i et kodende gen: *PanI*.

I de statistiske analysene er GenePop v4.0.6 brukt for å teste avvik fra Hardy-Weinberg likevekt, og heterozygositet og Arlequin for å beregne genetisk differensiering. MSA 4.05 ble benyttet til å beregne global Fst-verdi, og STRUCTURE v2.3.3 for en preliminær analyse av mulig struktur i hele materialet. "Burn in Period" var her satt til 50 000 med etterfølgende

MonteCarlo, og programmet GeneClass ble brukt for å teste mulighetene for genetisk å identifisere og plassere larver til en av gruppene; oppdrettsfisk - villfisk. For å teste likheten mellom et individ og mulig opphavsgruppe, ble det også gjennomført en "ekklusjons"-analyse for beregne sannsynligheten for uriktig å utelukke individ fra sin gruppe. MEGA 5 ble brukt for å lage UPGMA-tre basert på genetisk distanse fra Arlequin-analysene.

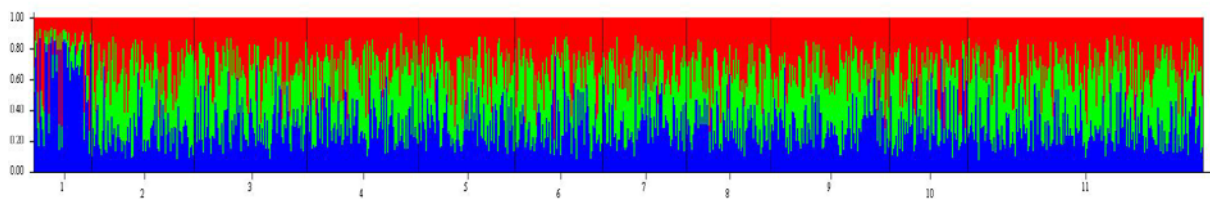
For om mulig å identifisere eventuelle markører som kan være under seleksjon, ble alle individuelle genotyper analysert med programmet LOSITAN.

## Resultater

DNA ble isolert fra totalt 1132 prøver, hvorav 476 var larver fanget med hov i mai 2011. De resterende 656 prøvene var finneklipp fra voksen fisk. Totalt gav 32 (5,9 %) larver ingen PCR-produkt ved analyser med spesifikke torskemarkører.

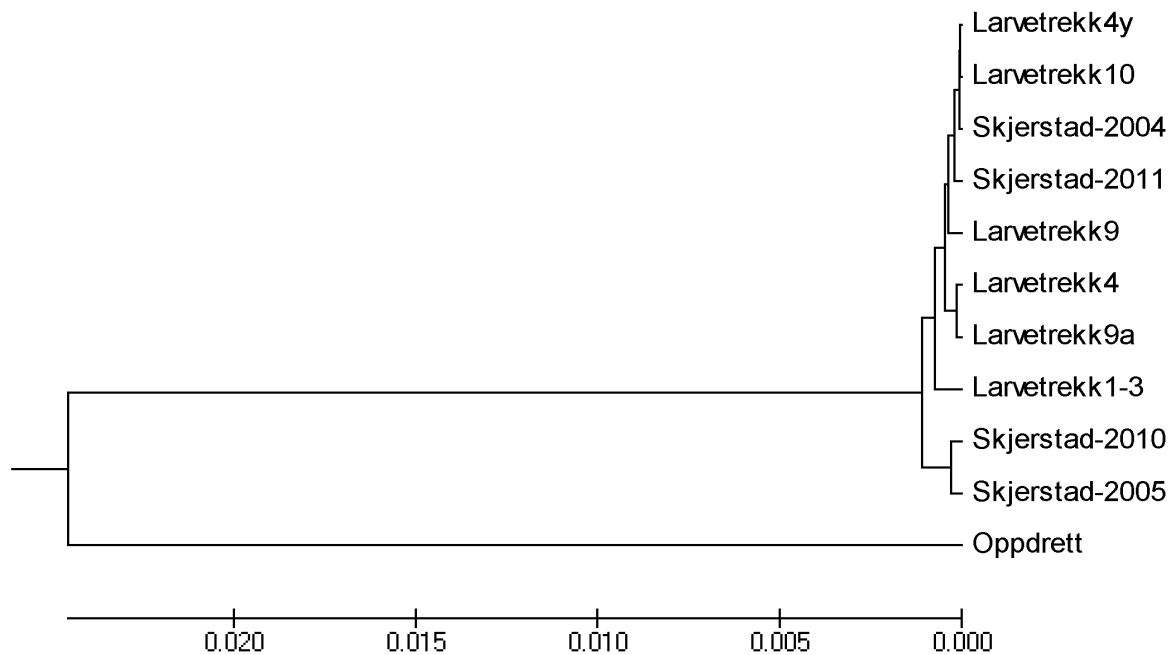
Vi testet totalmateriale, inkludert oppdrettsfisken for Hardy-Weinberg-likevekt (HWE) og av 121 tester av populasjons-/locus-kombinasjoner avvek 21 fra likevekt ( $\alpha=0.05$ ). Etter en korleksjon på 11 tester per populasjon (ny  $\alpha=0.0045$ ), satt vi igjen med kun 9 som signifikant avvek fra HWE. Ingen loci var involvert i mer enn to signifikante avvik fra HWE.

Oppdrettsprøvene ble analysert i forbindelse med et annet prosjekt og her ble bare 10 av de 19 mikrosatellitt-/Pan-markørene brukt. Disse 10 markørene ble benyttet til sammenligning mellom oppdrettsfisk og villfisk. Den innledende analysen med STRUCTURE (Figur 2) antyder at oppdrettsfisken skiller seg fra den ville fisken i fjorden og mer detaljerte statistiske analyser viste signifikante forskjeller mellom oppdrettsfisk og villfisk (Tabell 2 og Figur 3).



**Figur 2.** Alle prøvene analysert vha STRUCTURE ( $k=3$ ). 1: Oppdrettstorsk, 2-7: yngel fra håvtrekk mai 2011, 8-9: gytende torsk tatt i 2004 og 2005, 10: torsk fanget høsten 2010, og 11: gytende torsk våren 2011.

Oppdrettsfisken er signifikant forskjellig fra alle de andre prøvene ( $F_{st} = 0.041-0,061$ ) (Tabell 2), mens prøven som ble samlet inn høsten 2010 (Skjerstad-2010) er signifikant forskjellig fra gytefisken om våren (Skjerstad-2011) og to av håvtrekkene (Trekk 1-3 og Trekk 4). Alle larvene fanget etter gytingen i 2011 er signifikant forskjellig fra oppdrettsfisken og en "assignment"-analyse ved hjelp av GeneClass tilordnet larvene til villfiskprøven. Det var ingen larver som med sikkerhet kunne knyttes til oppdrettsfisk.



**Figur 3.** *Fylogenetisk tre basert på UPGMA-metoden.*

All fisk ble analysert med *PanI*. Disse analysene viste et innslag av skrei (11–30 %) i alle prøvene med unntak av oppdrettsfisken (Tabell 1). Det er ingen klar trend i andelen skrei i yngelprøvene selv om den største andelen ble observert i de tidligste prøvene tatt lengst ut (Trekk 1–3: 30 % og Trekk 4: 21 %).

Analysen av alle mikrosatellittmarkørene som ble benyttet i genotypingen ved hjelp av LOSITAN viste ingen tegn på at noen av markørene som ble benyttet er under seleksjon.

**Tabell 1.** *Analyserte prøver i Skjerstadjorden. "Trekk"-prøvene er yngel samlet inn ved hovtrekk, NDNA er prøver som gav DNA ved ekstraksjon. % skrei er estimert ut fra linjært forhold basert på andelen B allel i en ren skreiprøve og andelen A allel i en ren kysttorskprøve.*

	N	NDNA	% DNA	% skrei
Oppdrett	46	46	100,0 %	0 %
Skjerstad-2010	157	61	38,9 %	11 %
Skjerstad-2004	69	68	98,6 %	20 %
Skjerstad-2005	96	95	99,0 %	16 %
Skjerstad-2011	224	224	100,0 %	22 %
Trekk1-3	96	82	85,4 %	30 %
Trekk4	96	90	93,8 %	24 %
Trekk4ytre	96	90	93,8 %	18 %
Trekk9	96	77	80,2 %	16 %
Trekk9a	88	69	78,4 %	21 %
Trekk10	68	68	100,0 %	14 %
Total	1132	937	88,0 %	

## Diskusjon

Skjerstadvfjorden er en terskelfjord på innsiden av Saltstraumen, et innløp som bare er 26 m på det grunneste. Den grunne og trange inngangen til fjorden, Saltstraumen, har ført til mye interesse, og de tidligste studiene som er registrert er fra 1877 (Mohn 1877). Fjorden er over 500 m dyp på sitt dypeste, men det er ikke målt oksygenmetningen på under 80 % uansett dyp (Skreslet 2002). Dette er sannsynligvis en viktig faktor for det store artsmangfoldet av villfisk og store forekomster av korallskog og -rev. I 2007 ble de første konsesjonene for torskeoppdrett tildelt aktører i fjorden. Det var ikke rapporteringsplikt de første årene, så her kan vi bare anta at den første torsken kom i merd i sjøen i 2008. Det har vært rapporterte rømminger fra anlegg i fjorden, og anleggene har skapt diskusjon omkring faren for påvirkning av den ville torskestammen. Den siste oppdrettstorsken ble slaktet ut i desember 2010.

I forbindelse med et generelt utredningsarbeid omkring problematikken rømt oppdrettstorsk og mulig påvirkning på ville bestander, ble det gjennomført en feltstudie av torsk i Skjerstadvfjorden både utenfor gytetidspunktet, høsten 2010, og i gyteperioden våren 2011. I tillegg ble det gjennomført håvtrekk for å studere sammensetningen av yngel produsert under gyteperioden. I analysene er det bare inkludert de håvtrekkene som inneholdt stort antall larver. Dersom oppdrettsfisk skal kunne påvirke villtorsken genetisk, må den produsere avkom sammen med villtorsken, det vil si krysse seg med villfisk. Ut fra tidligere erfaring med rømt oppdrettstorsk (Glover et al. 2010) vil vi forvente at det vil være mulig å identifisere larver som eventuelt er resultat av en krysning mellom vill og oppdrettet fisk. For en grundig vurdering av mulig innblanding av oppdrettsfisk var det viktig at vi hadde tilgang til prøver fra oppdrettsanlegg i fjorden. Imidlertid er mulig separasjon avhengig av den genetiske forskjellen mellom oppdrettsfisk og villfisk. Signifikant genetisk forskjell mellom oppdrettsfisk og villfisk gir god grunn til å anta at det er mulig å identifisere opphav (oppdrettsfisk eller villfisk) til yngelen.

Til den generelle analysen av fjordsystemet ble det inkludert genetiske prøver tatt på gytefeltet Valnesfjorden (se Figur 1) i 2004 og 2005. Resultatene viser at oppdrettsfisken er signifikant forskjellig fra alle andre prøver tatt i fjorden, det være seg voksen fisk eller larver (Tabell 2, Figur 3). Det ble ikke funnet noen signifikante forskjeller mellom yngelprøvene, eller mellom yngelprøvene og prøvene samlet inn i gyteperiodene. Prøven tatt utenfor gyteperioden høsten 2010, "Skjerstad-2010", er den eneste prøven som er signifikant forskjellig fra noen av de andre gruppene (Tabell 2). Deler av denne prøven ble tatt langt inne i fjorden (i nærheten av Rognan), og det kan stilles spørsmål om dette er en gruppe som eventuelt er mindre påvirket av skrei som kommer inn i fjorden enn torsken legger ute.

Assignment analyser med GeneClass, hvor yngelen testes mot oppdrettsfisken og gytefisk 2010, viser også klart at all yngel samlet inn i 2011 kan føres tilbake til gytefisk 2010. Ingen av yngelen kan knyttes til oppdrettsfisken. Det synes derfor rimelig å anta at yngelen som er produsert i Skjerstadvfjorden i 2011 er et resultat av villfiskgyting, og at det ikke er noen antydning til at oppdrettsfisk har deltatt i årets gyting. Det at prøvene tatt på høsten 2010,



”Skjerstad 2010”, er signifikant forskjellig fra noen av yngelprøvene, kan være et signal om at det utenfor gytesesongen kommer inn torsk utenfra som oppholder seg i fjorden en stund. Når gytetiden kommer kan det se ut som at denne forsvinner ut av systemet.

Et annet interessant resultat er andelen skrei som synes å befinne seg i Skjerstadjorden til enhver tid. *PanI*-analysene, som er blitt benyttet rutinemessig i flere år for å skille skrei fra kysttorsk i Lofoten og de senere år Hessafjorden ved Ålesund, tyder på at over 20 % av gytefisker i Skjerstadjorden er skrei. Selv i de tidlige prøvene fra 2004 og 2005 er det relativt mye skrei, henholdsvis 20 og 16 %, og det er skrei til stede utenfor gytesesongen høsten 2010 (11 %). Andelen skrei i larvetrekkene ser ut til å minke fra ytterst (21–30 %) til innerst (16–21 %) i prøvetakingsområdet (Figur 1, Tabell 1). Den observerte frekvensen av skrei i Skjerstadjorden korresponderer med andelen skrei i prøver tatt ved Hopen (like utenfor Saltstraumen), 2004: Hopen=17 %, Skjerstadjorden=16 % og 2005: Hopen=22 %, Skjerstadjorden=20 % (data ikke vist). Skrei synes altså å være en komponent av den torskebestanden som befinner seg i Skjerstadjorden, og andelen ser ikke ut til å endre seg til tross for store mengder skrei i området utenfor.

Det vil av og til være vanskelig å skille torskelarver fra larver av annen torskefisk. Dette kan være årsaken til at 5,9 % av larvene ikke ga noe PCR-produkt når vi benyttet spesifikke torskeprimere. Vi antar at dette ikke er torsk, men sannsynligvis annen torskefisk.

## Referanser

Aas K, Sæther BS (2008) Vanmiljø og hydrodynamikk i Skjerstadvfjorden. (Rapport fra Balindhaug Norfico AS).

Eliassen IK, Heggelund Y, Haakstad M, (2001) A numerical study of the circulation in Saltfjorden, Saltstraumen and Skjerstadvfjorden. *Continental Shelf Research* 21 (2001) 1669–1689.

Glover KA, Dahle G, Westgaard JI, Johansen T, Knutsen H, Jørstad KE (2010), Genetic diversity within and among Atlantic cod (*Gadus morhua*) farmed in marine cages: a proof-of-concept study for the identification of escapees. *Animal Genetics*, 41: 515–522.

Mohn H, (1887). Nordhavets dybder, temperatur og strømninger. Den Norske Nordhavs-Expedition 1876–1878, Vol. 2.

Skreslet S, (1996) Miljøundersøkelse i Skjerstadvfjorden. HBO-rapport nr. 4 and 5/1996. (Høgskolen i Bodø).

Skreslet S, (2002) Miljøundersøkelse i Skjerstadvfjorden. HBO-Rapport 2/2002 (Høgskolen i Bodø).

Truett GE, Heeger P, Mynat, RL, Truett AA, Walker JA, Warman ML (2000) Preparation of PCR-Quality Mouse Genomic DNA with Hot Sodium Hydroxid and Tris (HotSHOT). *BioTechniques* 29: 52-54.

**Tabell 2.** Fst-verdier mellom forskjellige prøver samlet i Skjerstadjorden. "Oppdrett" er fisk fra et tidligere oppdrettsanlegg i fjorden samlet inn 2009, "Skjerstad-2010" er fisk fanget høsten 2010, "Skjerstad-2004/05/11" er gytefisk, og "Trekke"-prøvene er larver samlet ved håvtrekk mai 2011 (se Figur 1).

	Oppdrett	Skjerstad-2010	Skjerstad-2004	Skjerstad-2005	Skjerstad-2011	Trekk1-3	Trekk4	Trekk4-ytre	Trekk9a	Trekk9
Skjerstad-2010	0,0406***									
Skjerstad-2004	0,0540***	0,0024								
Skjerstad-2005	0,0470***	0,0006	0,0015							
Skjerstad-2011	0,0562***	0,0048**	0,0004	0,0005						
Trekk1-3	0,0614***	0,0076***	0,0006	0,0028*	0,0009					
Trekk4	0,0465***	0,0047**	0,0017	0,0008	0,0005	0,0008				
Trekk4-ytre	0,0475***	0,0015	0,0002	0,0005	0,0002	0,0021	0,0006			
Trekk9a	0,0434***	0,0005	0,0009	0,0018	0,0005	0,0024	0,0003	0,0003		
Trekk9	0,0515***	0,0024*	0,0013	0,0007	0,0004	0,0009	0,0007	0,0006	0,0009	
Trekk10	0,0430***	0,0017	0,0001	0,0007	0,0007	0,0027	0,0011	0,0001	0,0022	0,0006