

## **Tracing escaped farmed salmon by means of naturally occurring DNA markers, fatty acid profiles, trace elements and stable isotopes TRACES**



*Øystein Skaala\*, Kevin Glover, Havforskningsinstituttet*

*Bjørn Høyheim, Norges veterinærhøgskole*

*Iciar Ramirez, Marit Aursand, Inger Beate Standal, I.B., David Axelson, SINTEF*

*Bengt Finstad, Norsk institutt for naturforskning*

*Kevin G. Butterworth, British Columbia Centre for Aquatic Health Sciences, Canada*

*R. Scott McKinley, The Centre for Aquaculture and Environmental Research, Canada*

*Otto Grahl Nilsen, Universitetet i Bergen*

*Vidar Moen, Veterinærinstituttet*

*Belinda Flem, NGU*

*Bjørn Barlaup, Helge Skoglund, Gunnar B. Lehmann, Tore Wiers,*

*Sven Erik Gabrielsen og Ole Sandven, (LFI, Universitetet i Bergen)*

*Michael Møller Hansen, Danmarks fiskeriundersøkelser*

---

*\*prosjektleder. E-post: oystein.skaala@imr.no,  
Havforskningsinstituttet, postboks 1870, N-5817 Bergen*

**Havforskningsinstituttet, 1. Juni 2008**

## **Innholdsliste**

<b>1.0 Sammendrag</b>	<b>3</b>
<b>2.0 Bakgrunn, mål og struktur</b>	<b>5</b>
2.1 Bakgrunn	5
2.2 Målet med prosjektet	5
2.3 Arbeidspakker og ansvar	6
<b>3.0 Resultater fra TRACES</b>	<b>7</b>
<b>3.1 DNA microsatelitt genotyping og identifisering (WP-1)</b>	<b>7</b>
A) Sporing av rømt laks i Romsdalsfjorden ved DNA mikrosatelitter	7
B) Testing av DNA mikrosatelitter for sporing i Hardangerfjorden	12
C) Statistisk støtte for forsøksdesign og DNA analyser	15
<b>3.2 Utvikling av SNPer til sporing av rømt oppdrettslaks (WP-2)</b>	<b>20</b>
<b>3.3. Identifisering ved lipid profiler og stabile isotoper (WP-3)</b>	<b>23</b>
A) Identifisering av rømt oppdrettslaks ved bruk av stabile isotoper	23
B) Lipidanalyser for å identifisere opprinnelsen av rømt laks	27
C) Sporing av rømt oppdrettslaks ved hjelp av fettsyreprofil av vevslipider	31
<b>3.4 Identifisering og separering av grupper av oppdrettsfisk ved bruk av sporelementer (WP-4)</b>	<b>43</b>
<b>3.5 Gytetfisktellinger i Hardangerfjordsystemet (WP-5)</b>	<b>50</b>

## 1.0 Sammendrag

For fiskeriforvaltningen har det lenge vært et ønske å kunne identifisere opphavet til urapportert rømt laks. Det kan være mange årsaker til at fisk rømmer fra oppdrettsanleggene, men når rømming ikke rapportes, finner man ikke årsaken, og da kan det heller ikke settes inn tiltak for å forebygge rømming. Prosjektet TRACES, *Tracing escaped farmed salmon by means of naturally occurring DNA markers, fatty acid profiles, trace elements and stable isotopes* har som mål å undersøke om laksens naturlige egenskaper kan benyttes for å identifisere hvilke oppdrettsanlegg rømlinger kommer fra.

Prosjektet har undersøkt flere metoder for sporing. Det er foreløpig DNA mikrosatelitt markører som har gitt de klareste resultatene. I en konkret rømmingsepisode i Romsdalsfjorden som ble undersøkt med DNA markører i TRACES gav metoden klare signal, og det lyktes å identifisere fra hvilken merd laksen hadde rømt. Andre metoder som lipid profiler, sporstoff og isotoper, som er undersøkt i TRACES vil kunne gi viktig utfyllende informasjon i tilfeller hvor fisken i de enkelte oppdrettsanleggene er så genetisk lik at DNA markører ikke kan gi svar alene.

Fiskeri- og kyst departementet tok i 2003 initiativ til å opprette et nasjonalt utvalg for å utrede spørsmål knyttet til merking av oppdrettsfisk, "Merkeutvalget". Initiativet hadde bakgrunn i St.meld.nr. 12 (2001-2002) Rent og rikt hav, og Inst.S.nr.134 (2002-2003) Om oppretting av nasjonale laksevassdrag og laksefjorder. Utvalget konkluderte med at det er to ulike metoder som kan være egnet for identifisering av rømt laks: "Snutemerking" og "Beredskapsmetoden". Beredskapsmetoden baserer seg på laksen sine naturlige egenskaper som DNA profiler, fettsyreprofiler, sporstoff etc., og det er derfor ikke nødvendig å tilføre fisken noen form for merke. Metoden håndterer hver rømmingsepisode for seg, der man sammenligner profilen til hver rømling med referanseprøver fra oppdrettsanleggene i området. Derfor er det heller ikke nødvendig å utvikle databaser med informasjon om hvilken fisk som fins i avlksjerner, stamfiskstasjoner eller på det enkelte anlegg.

Innsamlingen av materiale fra oppdrettsanlegg i Hardangerfjorden ble organisert og gjennomført av Hardanger fiskehelsenettverk. Med kun et par unntak er det levert prøver til prosjektet fra samtlige oppdrettere i Hardangerfjorden, og næringen selv har derfor bidratt positivt til undersøkelsene.

Det er samarbeidet tett med fiskeriforvaltningen og miljøvernforvaltningen, blant annet gjennom styringsgruppen for prosjektet. Med utgangspunkt i erfaringene fra TRACES og i særdeleshet rømmingen i Romsdalsfjorden, er det utarbeidet prosedyrer for sporing av urapportert rømt fisk, helt fra håndtering av meldinger om rømt fisk til innsamling av rømlinger og referanseprøver fra oppdrettsanlegg, merking og lagring av materiale, til genotyping, statistisk bearbeiding og rapportering. Prosedyrer og metodikk er i løpet av første halvår 2008 implementert i fiskeriforvaltningen.

Samtidig er det gjort omfattende registreringer av antall rømt og vill laks i de fleste vassdragene i Hardangerfjordbassenget. Disse registreringene foretatt under TRACES i samarbeid med Universitetet i Bergen og Fylkesmannen i Hordaland, har avdekket at samtlige laksebestander i bassenget, med unntak av bestanden i Etneelven, ligger langt under selvreproduserende nivå, og er derfor følsomme for påvirkning fra rømt oppdrettslaks. Disse registreringene representerer en viktig dokumentasjon på tilstanden hos villaksen i et gitt

tidsrom, og en referanse for de påkrevde fremtidige tiltak som må gjennomføres for å gjenoppbygge bestandene.

Utviklingen går meget raskt innenfor identifisering av individer og grupper av dyr, og det må påregnes en kontinuerlig metodeutvikling og -tilpasning, blant annet med hensyn på DNA markører. De nye SNP markørene vil sannsynligvis overta på DNA siden i løpet av et år eller to, og disse vil kreve flere tilpasninger. Det vil også være nødvendig å videreutvikle andre metoder enn de DNA baserte, som støtteinformasjon i de tilfeller oppdrettsfisken i de enkelte anlegg i et område er for genetisk like til at DNA markører alene differensierer mellom anleggene. Innenfor de budsjett- og tidsrammene TRACES har hatt, har man oppnådd mye. Gjennom TRACES har vi vist at det i mange tilfeller er praktisk mulig med relativt liten økonomisk innsats å identifisere opphavet til rømt laks like tilbake til merden fisken rømte fra, forutsatt at man følger prosedyrene for Beredskapsmodellen.

## **2.0 Bakgrunn, mål og struktur**

### **2.1 Bakgrunn**

Fiskeri- og kyst departementet tok i 2003 initiativ til å opprette et nasjonalt utvalg for å utrede spørsmål knyttet til merking av oppdrettsfisk, ”Merkeutvalget”. Initiativet hadde bakgrunn i St.meld.nr. 12 (2001-2002) Rent og rikt hav, og Inst.S.nr.134 (2002-2003) Om oppretting av nasjonale laksevassdrag og laksefjorder. Utvalget konkluderte med at det er to ulike metoder som kan være egnet for identifisering av rømt laks: ”Snutemerking” og ”Beredskapsmetoden”. Beredskapsmetoden baserer seg på laksen sine naturlige egenskaper som DNA profiler, fettsyreprofiler, sporstoff etc., og det er derfor ikke nødvendig å tilføre fisken noen form for merke. Metoden håndterer hver rømmingsepisode for seg, der man sammenligner profilen til hver rømling med referanseprøver fra oppdrettsanleggene i området. Derfor er det heller ikke nødvendig å utvikle databaser med informasjon om hvilken fisk som fins i avlskjerner, stamfiskstasjoner eller på det enkelte anlegg.

Merkeutvalget gjennomgikk en rekke metoder som kunne ha relevans for sporing av urapportert rømt fisk. Noen av disse metodene tok utgangspunkt i fiskens naturlige egenskaper, og var derfor vurdert som særlig interessante i forbindelse med utviklingen av den såkalte ”Beredskapsmodellen”. I utgangspunktet tenkte man å teste ut en standard materialpakke for alle de enkelte metodene. Det viste seg imidlertid at de enkelte metodene var utviklet i forskjellig grad, og at flere av metodene stilte helt forskjellige krav til materialtype. Mens noen kunne benytte skjell fra ikke-destruktiv sampling, måtte andre bruke vev fra indre organer i fisken. Siden de forskjellige metodene var utviklet i helt ulik grad, og noen hadde større behov for validering av metodikk, var det ikke hensiktsmessig å kjøre samme materiale gjennom de ulike metodene, og innenfor det fastlagte budsjettet ville dette være helt urealistisk. Dette medførte at man redesignet prosjekt og arbeidspakker hvor de enkelte metodene håndterte fikk et materiale som var tilpasset metoder og behov.

Innsamlingen av materiale fra oppdrettsanlegg i Hardangerfjorden ble organisert og gjennomført av Hardanger fiskehelsenettverk ved Rune Stigum Olsen og Ragnhild Malkenes. Med kun et par unntak er det levert prøver til prosjektet fra samtlige oppdrettere i Hardangerfjorden, og næringen selv har derfor bidratt positivt til undersøkelsene.

Etter oppstartingen av prosjektet, fikk prosjektleder forespørsel fra Otto Grahl Nielsen ved Kjemisk Institutt, Universitetet i Bergen som ønsket å utføre supplerende lipidanalyser på noe av materialet. Vi fant dette hensiktsmessig, og dette arbeidet ble finansiert med egeninnsats fra Universitetet i Bergen og noe egenfinansiering fra Havforskningsinstituttet. Dette arbeidet er rapportert sammen med arbeidspakke 3.

### **2.2 Målene med prosjektet**

Høsten 2004 og vinteren 2005 ble det oppdaget uvanlig store mengder rømt laks i Hardangerfjorden, og store antal rømlinger ble fanget i sjø, i elvemunninger og i vassdrag. Noen av rømlingene skrev seg fra rapportert rømming, men variasjon i størrelse og kjønnsmodning tydet på at en del fisk også hadde opphav i andre rømmingsepisoder. Hovedmålet med prosjektet var å teste ut ulike metoder for for sporing av urapportert rømt

laks ved hjelp av fisken sine naturlige egenskaper som DNA profiler, lipid profiler, isotoper, sporstoff mv.

Følgende mål ble utformet:

- Fastslå presisjonen i identifisering og sporing av rømt laks ved DNA mikrosatelitt markører
- Fastslå presisjonen i identifisering og sporing av rømt laks ved enkeltnucleotid polymorfismer (SNP's)
- Sammenligne presisjonen, kostnad og tidsbruk ved DNA mikrosatellitter og SNP's
- Fastslå om det er mulig å skille mellom laks fra samme genetiske smoltgruppe ved lipid profiler, sporelement og stabile isotoper
- Fastslå om det er mulig å skille mellom laks fra ulike klekkeri ved hjelp av sporelement

### **2.3 Arbeidspakker og ansvar**

Prosjektet ble satt sammen av arbeidspakker, hver ledet av en forsker med ansvar for fremdrift og rapportering.

**WP-1: DNA microsatellite genotyping and identification:** Dr. Øystein

Skaala and Dr. Kevin Glover, The Institute of Marine Research

**WP-2: SNP genotyping and identification:** Dr. Bjørn Høyheim, The

Norwegian Veterinary College and prof. Michael Møller Hansen, The Danish Institute of Fisheries Research

**WP-3: Identification by lipid acid profiles and stable isotopes:** Dr. Bengt

Finstad, Norwegian Institute of Nature Research and Dr. Marit Aursand SINTEF

**WP-4: Identification and separation of farmed fish stocks based on trace**

**element analysis:** Dr. Vidar Moen, VESO and Dr. Belinda Flem, NGU

**WP-5: Sampling and assessment of escaped salmon:** Dr. Bjørn Barlaup

University of Bergen and Dr. Ove Skilbrei The Institute of Marine Research

**WP-6: Statistical support on research design and analysis of DNA**

**microsatellites and SNP's:** Prof. Michael Møller Hansen, The Danish Institute of Fisheries Research

**WP-7: Administration, meetings, reporting and publicity:** Project leader, Dr. Øystein

Skaala, The Institute of Marine Research

Gjennom planleggingsfasen og utformingen av søknaden, dokumenterte de enkelte arbeidspakkelederne ressursbehovet for hver arbeidspakke. Det samlede prosjektet hadde et finansieringsbehov på ca NOK 15 mill. fordelt over tre år, 2006-2008. Søknaden ble godkjent av Norges forskningsråd men med en budsjetttramme på NOK 5.0 mill. fordelt over kun to år, og med fokus på utvikling av metodikk. Prosjektdeltagerne ble likevel enige om å gjennomføre et redusert prosjekt på metodeutvikling innenfor innvilget ramme på kr 5. Mill.

### 3.0 Resultater fra TRACES

#### DNA mikrosatelitt genotyping og identifisering (WP-1)

*Øystein Skaala, Kevin Glover, Institute of Marine Research*

---

Utgangspunktet for denne arbeidspakken var å teste presisjonen i DNA mikrosatelitt markører for sporing av rømt laks i Hardangerfjorden som er et av de tyngste oppdrettsområdene i Norge. Like etter oppstartingen av TRACES ble det fra Fiskeridirektoratet uttrykt ønske om at Havforskningsinstituttet skulle undersøke en konkret rømmingssak i Romsdalsfjorden. Denne situasjonen representerte en sak som var begrenset i omfang, og hvor det dessuten forelå et materiale av rømt laks som med stor sansynlighet beskrev seg fra et av oppdrettsanleggene i Romsdalsfjorden. Undersøkelsen av dette materialet ble finansiert med egne midler fra Havforskningsinstituttet, og prioritert i tid foran det store materialet fra Hardangerfjorden. Siden undersøkelsen omhandlet et konkret forsøk på sporing ved hjelp av mikrosatelitt DNA markører, var det naturlig å inkludere denne undersøkelsen i TRACES prosjektet. Denne arbeidspakken omhandler derfor to deler, A: Sporing av rømt laks i Romsdalsfjorden ved hjelp av DNA mikrosatelitt markører og B: Testing av DNA mikrosatelitt markører for sporing av rømt laks i Hardangerfjorden. Siden WP-6 også omhandler metoder knyttet til sporing ved DNA markører, er rapporten fra denne arbeidspakken gruppert sammen med WP-1 i sluttrapporten.

#### Sporing av rømt laks i Romsdalsfjorden ved hjelp av DNA mikrosatelitt markører (WP-1A)

---

##### Bakgrunn

Høsten 2006 (fra og med 20.09.06) rapporterte fritidsfiskere i Romsdalsfjorden til Fiskeridirektoratet plutselige forekomster av rømt laks i garnene. Fiskeridirektoratets regionskontor i Møre og Romsdalen kontaktet rutinemessig de ulike selskapene i området, men mottok ingen rapporter vedrørende rømmingen.

##### Materiale og metode

Etter dialog med Havforskningsinstituttet ble det av regionkontoret samlet inn prøver fra fettfinner på laks fra alle oppdrettsanlegg i området fra 6-7 oktober (Figur 1). Det ble kun tatt prøver fra merder som inneholdt laks som var av tilsvarende størrelse som den som ble fanget av fritidsfiskere. På noen anlegg ble det tatt prøver av flere merder fordi anleggene hadde smolt fra ulike smoltprodusenter i de ulike merdene. Alle oppdrettsanleggene gav samtykke til innsamling. Det ble samlet inn 50 fettfinner fra hver smoltgruppe, og disse ble lagret på ethanol for ekstraksjon av DNA. Totalt ble det samlet inn prøver av 16 smoltgrupper a 50 individ, fra 7 oppdrettsanlegg. (Tabell 1). Disse representerer smolt fra 12 forskjellige smoltprodusenter. Prøvene ble oversendt Havforskningsinstituttet 10. oktober 2006.

Fem fiskere som hadde fanget rømt oppdrettslaks ulike steder i Romsdalsfjorden (Figur 1) ble kontaktet av Fiskeridirektoratets Region Møre og Romsdal 12. oktober 2006. Det ble da tatt vevsprøver av 32 gjenfangete rømlinger som var oppbevart i fiskernes frysebokser.

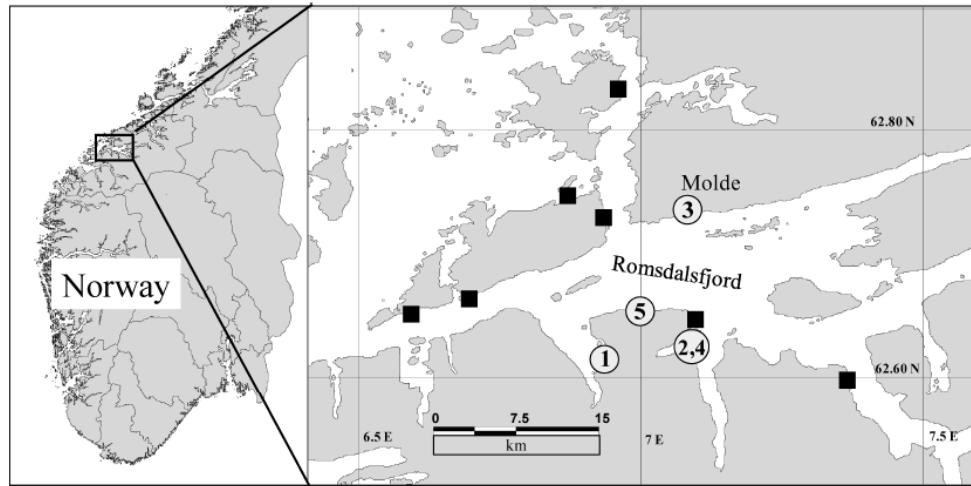


Figure 1. Kart med oversikt over fangststed for rømlinger og anlegg hvor det er samlet inn referanseprøver.

Rømlingenes oppdrettsbakgrunn ble fastslått utfra morfologiske karakterer. Fiskerne oppgav at fiskene var fanget i uke 37, 38 og 39 (11.-30. september 2006, med unntak av et individ fra 11. oktober 2006). Innsamlet prøvene ble oversendt Havforskningsinstituttet siste uke i Oktober 2006.

Table 1. Information available for the 32 recaptured farmed escapes, including assignment to baseline sample at  $p = 0.05$ .

Fish	Fisher	Capture date (week)	Sex	Maturity	Weight (kg) <sup>a</sup>	Length (cm) <sup>b</sup>	Winter zones	Capture method	Baseline sample
1	1	41	-	Immature	3.5	58	No	Net	1B
2	1	39	-	Immature	3.9	59	No	Net	1B
3	1	38	-	Immature	3.7	56	No	Net	4G
4	1	38	-	Immature	11.9	84	Yes	Net	Excluded all
5	1	38	-	Immature	4.9	59	No	Net	5I
6	1	38	-	Immature	3.5	57	No	Net	Not genotyped
7	1	38	-	Immature	2.4	52	No	Net	5I
8	1	37	-	Immature	3.7	58	No	Net	5I
9	1	37	-	Immature	3.7	61	No	Net	5I
10	1	37	-	Immature	3.3	59	No	Net	5I
11	1	37	-	Immature	2.8	54	No	Net	5I
12	1	37	-	Mature	2.4	53	No	Net	5I
13	1	37	-	-	4.4	62	No	Net	5I
14	2	39	♀	Immature	-	59	No	Angling	4G
15	2	38	♀	Immature	-	57	No	Angling	5I
16	2	38	♀	Immature	3.4 <sup>c</sup>	62	No	Angling	Not genotyped
17	2	38	♀	Immature	3.2 <sup>c</sup>	60	No	Angling	5I
18	2	38	♀	Immature	3.7 <sup>c</sup>	63	No	Angling	5I
19	2	38	♀	Immature	2.7 <sup>c</sup>	57	No	Angling	Excluded all
20	3	39	-	-	3.8	55	No	Angling	1A
21	3	39	-	-	3.2	56	No	Angling	5I
22	3	39	-	-	4.6	61	No	Angling	5I
23	4	38	-	Immature	-	42 <sup>d</sup>	No	Net	5I
24	4	39	-	Immature	-	36 <sup>d</sup>	No	Net	Not genotyped
25	4	40	-	Immature	-	29 <sup>d</sup>	No	Net	Excluded all
26	5	38	-	Immature	3.1 <sup>c</sup>	62	No	Net	5I
27	5	38	-	Immature	3.3 <sup>c</sup>	58	No	Net	5I
28	5	38	-	Immature	1.5 <sup>c</sup>	47	No	Net	5I
29	5	38	-	Immature	2.5 <sup>c</sup>	59	No	Net	5I
30	5	38	-	Immature	3.4 <sup>c</sup>	60	No	Net	4G/5I/5B
31	5	38	-	Immature	1.8 <sup>c</sup>	50	No	Net	Excluded all
32	5	38	-	Immature	2.5 <sup>c</sup>	54	No	Net	4G/5I

<sup>a</sup>Weight of fish excluding tail.

<sup>b</sup>Length of fish excluding tail.

<sup>c</sup>Gutted and tailed weight.

<sup>d</sup>Length without head or tail.



**Table 2.** Origin of the salmon groups reared on the seven marine farms sampled in Romsdalfjord.

Farm	Smolt producer											
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	X	X	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	X	X	-	-	-	-
5	-	X	-	-	-	-	X	-	X	X	X	-
6	-	-	-	-	X	X	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X

Smolt producers may rear more than one strain (data unavailable).

### Genotyping

DNA ble isolert fra 47-48 fisk fra hvert av de 16 prøveuttakene, og fra de 32 rømlingene som var gjenfanget (Quiagen metode i 96 brønns format). Havforskningsinstituttet sitt genetikk-laboratorium er fullt utrustet for genotyping av DNA mikrosatellitter, men høsten 2006 var ABI maskinen fullbooket med analyser på løpende prosjekteter. For å ivareta de løpende prosjektene best mulig samtidig som man fikk gjennomført DNA identifisering og sporing av rømlingene fra Romsdalsfjorden, ble DNA uttak av alle prøver sendt til det kommersielle firmaet Prokaria på Island, som har spesialisert seg på genotyping. I alt 15 mikrosatellitt loci ble amplifisert og genotypet på en ABI maskin ved Prokaria's laboratorium, mens genotypene ble identifisert ved programmet Genemapper. Disse dataene ble så oversendt Havforskningsinstituttet i et Excel regneark format for videre statistisk analyse. Flere statistiske analyser ble gjennomført på datasettet med programmene: Genepop, Fstat, TFPGA og GeneClass. GeneClass er et program for genetisk identifisering (assignment) som er benyttet i en rekke studier på genetisk identifisering av individer, mens de andre programmene kalkulerer standard populasjonsgenetiske parametre.

## Resultater og diskusjon

### Amplifisering av DNA i prøver

Det ble oppnådd høy grad av mikrosatellitt scoring (over 95%) i alle de 16 baseline prøvene fra oppdrettsanleggene. På grunn av svak DNA kvalitet (sannsynligvis på grunn av behandling av materialet før det ankom Havforskningsinstituttet), kunne DNA i 3 av de 32 rømlingene ikke amplifiseres, og disse 3 individene ble derfor forkastet. Likeledes var det en DNA mikrosatellitt markør som det ikke lyktes å amplifisere i noen av prøvene. Likevel gir dataene en god anledning til å undersøke opphavet til 29 av rømlingene som ble gjenfanget.

### Genetisk differensiering og simulering av identifisering til baseline prøve

Parvise Fst verdier mellom de 16 baseline prøvene varierer fra 0.000 til 0.154 (Fst er et mål for genetisk distanse. Høyere Fst verdi tilsvarer større genetisk forskjell mellom prøvene). De observerte forskjellene tilsvarer nivået vi har observert mellom de mest divergente norske avlslinjene (Skaala et al., 2004).

Simulering av identifisering mellom de 16 baseline prøvene fra oppdrettsanleggene (self assignment) ble først gjennomført for å undersøke potensiale for genetisk identifisering av rømlingene. Forenklet sagt innebærer denne metoden at hvert enkelt individ "blindtestes" for

å se om den tilbakeføres til egen, eller annen, baseline prøve. Teoretisk beregnet presisjon i identifiseringen ble utfra simuleringen beregnet til at 62,5% av individene ble riktig tilbakeført (Tabell 3). Presisjonen i identifisering varierte imidlertid fra 28% til 100% mellom de 16 prøvene. Dette skyldes at noen av de 16 prøvene var mer genetisk forskjellige enn andre, og følgelig kunne identifiseres med større presisjon. Simuleringene gjennomført med de 16 baseline prøvene viste gode muligheter for genetisk identifisering, og identifisering av den rømte fiskens opphav.

Tabell 3. Resultatene fra ”self-assignment” testene eller blind testene av baseline prøvene.

Baseline sample	Baseline sample															
	1A	1B	1C	2D	3E	3F	4G	4H	5I	5J	5G	5K	6E	6F	5B	7L
1A	24	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1B	21	27	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
1C	-	-	48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	-
2D	-	-	-	25	2	5	-	-	-	1	-	7	6	-	-	5
3E	1	-	-	3	26	4	-	-	-	-	-	4	3	-	-	12
3F	-	-	-	7	2	23	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-
4G	-	-	-	-	-	-	17	2	1	1	27	1	-	-	-	-
4H	1	-	-	-	-	-	3	39	-	-	5	-	-	-	-	-
5I	-	-	-	-	-	-	2	2	46	-	1	-	-	-	-	1
5J	-	-	-	-	-	-	-	-	1	38	-	-	-	-	-	-
5G	-	-	-	-	-	-	26	3	-	-	13	-	-	-	-	2
5K	-	-	-	8	3	1	-	-	-	4	-	21	3	-	-	4
6E	-	-	-	2	4	9	-	-	-	1	-	11	23	-	-	1
6F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	47	1	-
5B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	33	-
7L	-	-	-	2	11	4	-	-	-	1	-	3	2	-	-	25
Percentage assigned correctly	51	59	100	53	54	50	35	85	96	81	28	45	49	100	69	53

Emboldened numbers represent the numbers of fish correctly assigned to a cage sample, and the other numbers represent misclassified individuals. Overall assignment = 62.5%.

### Identifisering av de 29 rømlingene

Identifisering av opphavet til de 29 rømlingene ble gjennomført ved to ulike metoder:

- 1) Direkte identifisering (assignment) av individ til baseline prøve, og
- 2) Ekskludering av individ fra baseline prøvene.

”Direkte identifisering” plasserer et individ i den baseline prøven som er mest genetisk lik. Totalt ble 21 av de 29 rømlingene plassert direkte inn i baseline prøve 5I (Misund Fisk Furuneset, Mærd 13, Fistersmolt) (Tabell 2). Dette betyr at direkte identifisering viste at ca 21 av de 29 rømlingene mest sannsynlig kom fra en spesifikk merd. De gjenværende rømlingene som ikke ble identifisert til baseline prøven 5I fordelte seg mellom de andre 15 baseline prøvene (Tabell 4), noe som kan antyde et blandet opphav for disse.

”Direkte identifisering” tar ikke med i betraktning at i noen situasjoner (slik som i denne undersøkelsen), så vil ikke alle baseline prøver som kan ha gitt opphav til de ukjente individene være representert. Følgelig er det viktig å få et mål for genetisk likhet mellom disse rømlingene og baseline prøvene. Dette oppnår man ved den andre metoden, ”Eksklusjonsbasert simulering”, der beregningene gjøres for ulike grader av statistisk sannsynlighet. Denne metoden ekskluderer hvert individ i tur og orden fra hver av baseline prøvene utfra sannsynligheten for at et gitt individ tilhører de respektive baseline prøvene.

Slik simulering av sannsynligheten for at et individ kan ekskluderes fra en baseline prøve ble gjort ved to ulike statistiske signifikans-nivåer (0,05 og 0,01 %). Kalkulert for

signifikansnivå 0.05 (nivået der statistisk holdbar forkasting blir oppnådd først), ble ingen av rømlingene funnet å ligne 7 av de 16 baseline prøvene (Tabell 4). Dette ville bety at det er svært usannsynlig at noen av rømlingene kommer fra disse 7 baseline prøvene. I tillegg viste denne kalkylen at maksimalt 4 av de 29 rømlingene kunne komme fra 5 andre av de 16 baseline prøvene, og maksimalt 9 rømlinger fra 3 av de resterende anlegg. I den gjenværende baseline prøven (5I), ble bare 9 av de 29 rømlingene ekskludert, mens 20 av de 29 rømlingene (69%) samsvarte godt med den genetiske profilen fra denne merden. Ved kalkulering på dette nivået for sannsynlighet ble 4 (14%) av de 29 rømlingene forkastet fra alle 16 baseline prøver. Dette antyder at disse 4 individene kan ha opphav i andre anlegg som ikke er inkludert i baseline prøvene i vår undersøkelse, men kan ha vandret inn i fjordområdet fra andre lokaliteter utenfor fjorden.

Tabell 4. Identifisering av opphavet til de 29 genotypete rømlingene ved ”direkte assignment” og ”ekskludering” fra baseline prøvene.

Test	Farm																
	1A	1B	1C	2D	3E	3F	4G	4H	5B	5I	5J	5G	5K	6E	6F	7L	Rejected all farms
<i>Direct assignment to farm</i>																	
	1 (0.03)	2 (0.07)	1 (0.03)	0	0	0	2 (0.07)	1 (0.03)	0	21 (0.72)	0	0	0	0	1 (0.03)	0	NA
<i>Exclusion from farm</i>																	
0.01	25	25	27	29	29	29	20	25	19	7	26	21	29	29	29	28	3
0.05	26	26	28	29	29	29	22	25	20	9	28	22	29	29	29	29	4

Exclusion is based upon a simulation with 10 000 individuals per population, and a probability that the escapee is below a threshold of 1 and 5% likelihood of having arisen from that baseline sample. NA, not applicable.

En kombinasjon av de to metodene, identifisering til prøve og simulering av den statistiske sannsynligheten for å kunne ekskludere fisk fra en prøve, gir et sterkt signal på at ca 20 av de 29 rømlingene har sitt opphav i baseline prøven 5I. Datene viser videre at ca 4 av disse 29 rømlingene har mest sannsynlig sitt opphav utenfor fjordbassenget og at de resterende 5 individer kan ha kommet fra flere av de andre baseline prøvene.

### Konklusjoner

1. Det ble observert en betydelig grad av genetisk differensiering mellom de 16 baseline prøvene. Graden av differensiering var tilstrekkelig for å gjennomføre en DNA identifisering av opphavet til rømlingene.
2. Potensialet for genetisk identifisering (vist ved self-testing) mellom de 16 baseline prøvene fra oppdrettsanleggene, ble kalkulert til gjennomsnitt 62.5% av individene. Dette varierte fra 28% til 100% mellom de 16 baselineprøvene på grunn av at de parvise genetiske distansene er ulike mellom baseline prøvene. Dette viser at fisk fra en del av baseline prøvene kan identifiseres med høy presisjon.
3. Det ble vist ved eksklusjon simulering at det er sannsynlig at ca 4 av de 29 rømlingene ikke har opphav i noen av de undersøkte anleggene.
4. Det er ellers viktig å merke seg at disse testene ikke kan utelukke at noen eller alle de undersøkte rømlingene i området har opphav i ett eller flere anlegg utenfor det undersøkte området, og som derfor ikke inngår i baseline materialet.

5. Simulering av sannsynligheten for å ekskludere individer fra baseline prøver indikerte at ingen av de 29 rømlingene passet den genetiske profilen i 7 av de 16 baseline prøvene. Dette gir et sterkt signal på at rømlingene kan ikke har kommet fra noen av disse 7 baseline prøvene. Videre ble mellom 26 og 28 av de 29 rømlingene ekskludert fra 4 andre baseline prøver, og mellom 20-25 av de 29 rømlingene ble ekskludert fra 4 andre av de 16 baseline prøvene. Det er verd å merke seg at kun 9 av de 29 rømlingene ble ekskludert fra profilen til den resterende baseline prøven 5I.

6. Direkte identifisering viste at ca 20 av de 29 rømlingene har sitt mest sannsynlige opphav fra baseline prøven 5I (Misund Fisk, Furuneset, konsesjonsunner 13669, Mærd 13, smolt levert av Fistersmolt).

7. Et sentralt punkt i en eventuell videre optimalisering av metoden er utforming av prosedyrer som sikrer rask respons hos forvaltningen, slik at materiale både fra aktuelle baseline prøver og fra rømt fisk blir innsamlet så tidlig som mulig etter rømmingsepisoder, og slik at prøvenes kvalitet med hensyn på DNA og innsamlingssted blir ivaretatt.

## **Testing av DNA mikrosatellitt markører for sporing av rømt laks i Hardangerfjorden (WP-1B)**

---

### **Materiale**

Totalt ble det samlet inn prøver fra 44 merder gjennom sommer og høst 2005. Det ble tatt fettfinneprøver fra ca.50 individer fra hver smolt gruppe fra hvert oppdrettsanlegg I Hardangerfjorden.

### **Resultater**

#### *Genotyping*

Tilsammen 2217 individer fra 44 baseline prøver ble genotypet for were screened for 15 markører hos Prokario på Island, og 4 markører ved Havforskningsinstituttet. To av disse fire markørene, Ssa197 og Ssa202, ble typet I begge laboratorier for sammenligning av resultater I de to laboratoriene.

Av 2217 individer som ble analysert, måtte 6 individer fjernes fra et enkelt 96-brønns Brett på grunn av forurensning. Forurensningen ble registrert uavhengig i begge laboratorier, og skrev seg fra DNA isolerings brettet. Av de resterende 2211 individ, var det 32 individ som ikke produserte fragmenter I alle markører I enten det ene eller det andre laboratoriet, noe som antyder dårlig DNA kvalitet. Også disse individene ble fjernet fra datasettet. Av de resterende 2185 individ (99% av individene) som ble typed for de 17 markørene, var total scoring materialet 99%. Genotypefeil var fordelt mellom loci, varierende fra 0.3-1.8%.

Av de 96 tilfeldig valgte individene som ble resamlet fra de opphavelige DNA isolasjons brettene og kjørt omigjen for de fire markørene genotypet ved Havforskningsinstituttet, var det 100% samsvar mellom første og andre genotyping. PCR producter for LOCI Ssa197 og Ssa202 var 12bp større og 8bp mindre i Bergen enn hos Prokaria respektivt.

I de 44 baseline prøven ble det detektert 221 alleler for de 17 markørene, med gjennomsnittlig 13 alleler pr locus (range 3-26). Totalt antall alleler pr baseline prøve varierte fra 101-155 (mean = 5.9-9.1). Basert på en prøvestørrelse på 35 diploide individ,

varierte “allelic richness” pr baseline prøve over alle 17 loci fra 99-149 (mean = 5.8-8.7), med totalt 164 og gjennomsnittlig 9.6 over alle baseline prøver.

#### *Genetisk differensiering mellom baseline prøver*

Parvise Fst verdier varierte fra 0.000-0.185, 0.000-0.128, og 0.016-0.128 innenfor de tre prøveuttakene på henholdsvis 28 merder fra vårutsett, 16 merder fra høstutsett, og 8 merder fra høstutsett i anlegg lokalisert innenfor Varaldsøy. Dette viser svært ulike Fst verdier men likevel svært signifikante genetiske forskjeller mellom baseline prøvene.

#### *Self-assignment simuleringer*

Self assignment simuleringer ble gjennomført for vårutsettene, høstutsettene og for høstutsett smolt i anlegg innenfor Varaldsøy separat. Total korrekt assignment (GeneClass) var 44, 59 og 70% i de tre datasettene respektivt. Innenfor de tre datasettene varierte prosent self-assignment for de individuelle prøvene mye, fra 4-100%, 13-98% og 40-100%. Feilidentifisering varierte mellom individuelle baseline prøver og mellom de tre datasettene (vårutsett, høstutsett, høstutsett innenfor Varaldsøy). Feilbestemte individ ble fordelt over flere andre baseline prøver. Dette var særlig tydelig i det største datasettet som omfattet vårutsett med 28 baseline prøver, der total assignment også var lavest, og det var minst uttrykt i datasettet som omfattet prøver av 8 anlegg fra høstutsett innenfor Varaldsøy, hvor også total assignment var høyest.

### **Konklusjon**

I denne delundersøkelsen ble det fokusert på å undersøke graden av genetiske forskjeller mellom oppdrettsanleggene i en region med mye oppdrettsaktivitet, siden disse forskjellene forteller i hvilken grad det er mulig å identifisere opphavet til rømt fisk. Som ventet er Fst verdiene og presisjonen i metoden lavest når alle 28 merder fra vårutsett i hele fjordbassenget er inkludert, og presisjonen i identifiseringen (“self-assignment”) er kun 44% i gjennomsnitt. Dette er en ekstrem situasjon og et verst mulig tilfelle for sporing av rømlinger. I praksis vil man ikke arbeide med slike situasjoner, men søke å avgrense antall sannsynlige rømmingskilder gjennom en geografisk avgrensing utfra hvor den rømte fiske først ble registrert. Dette har vi simulert for høstutsett, der hele utsett består av 16 merder, hvorav 8 lokalisert innenfor Varaldsøy. Når vi ser på presisjonen i identifisering uttrykt ved “self-assignment” for hele høstutsett, er presisjonen 59%, dvs. i nærheten av hva vi fant i Romsdalsfjorden, og hele 70% når vi avgrenser antall rømmingskilder geografisk til de 8 lokalisert innenfor Varaldsøy. Betydningen av en hurtig innsamling av rømt fisk, konsentrert i tid og rom, må understrekes. I praksis tyder resultatene på at med en optimalisert metode fra innsamling til genotyping og statistisk bearbeiding, vil det i mange tilfeller også innenfor regioner med høy oppdrettsaktivitet være mulig å spore urapportert rømt fisk tilbake til merd.

### **Referanser**

- Baarøy V, Gjerde B, Heggberget TG, Jensen PE, Maroni K, Sandvik S, Skaala Ø, Taranger GL, Veie-Rossvoll B, Haldorsen M (2004) Identifisering av rømt oppdrettlaks. Utredning fra utvalg nedsatt av Fiskeridirektøren (Identification of escaped farmed salmon. Report from the Committee to the Director of Fisheries). 55pp. (In Norwegian).
- Cornuet JM, Piry S, Luikhart G, Estoup A, Solignac M (1999) New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics*, **153**, 1989-2000.

- Goudet J (2001) FSTAT, A program to estimate and test gene diversities and fixation indices version 2.9.3. Available from [www.unil.ch/izea/software/fstat.html](http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html).
- Hansen MM, Ruzzante DE, Nielsen EE, Mensberg K-LD (2000) Microsatellite and mitochondrial DNA polymorphism reveals life-history dependant interbreeding between hatchery and wild brown trout (*Salmo trutta* L.). *Molecular Ecology*, **9**, 583-594.
- Hansen MM, Bekkevold D, Jensen LF, Mensberg KLD, Nielsen EE (2006) Genetic restoration of a stocked brown trout *Salmo trutta* population using microsatellite DNA analysis of historical and contemporary samples. *Journal of Applied Ecology*, **43**, 669-679.
- Koljonen ML, Pella JJ, Masuda M (2005) Classical individual assignments versus mixture modeling to estimate stock proportions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) catches from DNA microsatellite data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **62**, 2143-2158.
- Skaala Ø, Høyheim B, Glover KA, Dahle G (2004) Microsatellite analysis in domesticated and wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): allelic diversity and identification of individuals. *Aquaculture*, **240**, 131-143.
- Skaala Ø, Wennevik V, Glover KA (2006) Evidence of temporal genetic change in wild Atlantic salmon, *Salmo salar* L., populations affected by farm escapees. *ICES Journal of Marine Science*, **63**, 1224-1233.
- Wennevik V, Skaala Ø, Glover KA (2007) Tracing escaped salmon to farm of origin. *Aquaculture*, submitted.

## Statistical support on research design and analysis of

### DNA microsatellites and SNP's (WP-6)

*Michael Møller Hansen, Danmarks fiskeriundersøkelser*

---

The past few years have seen an accelerating development in statistical methods for assigning individuals to populations. The use of “classical” assignment tests, based on calculating the log-likelihood of “belonging” of individuals in samples representing different populations (Cornuet *et al.* 1999) nevertheless remains the most important tool for tracing the farm of origin of escaped salmon. It is fast, simple and objective and with considerable statistical power. Indeed, this was also the method of choice for the first scientific paper reporting identification of the source of escaped farmed salmon using genetic markers (Glover *et al.* 2008).

One problem with using “classical” assignment tests is that a sample from a fish farm is automatically regarded as a sample of a population. In reality, however, several fish farms in a fjord may use fish from the same broodstock of farmed salmon. In order to increase statistical power, it would therefore be advantageous NOT to define the baseline samples beforehand. This can be done using the method STRUCTURE (Pritchard *et al.* 2000; Falush *et al.* 2003), which groups individuals into separate clusters based on the principle on minimizing Hardy-Weinberg and gametic phase (“linkage”) disequilibrium; a mixture of individuals from different populations will exactly show disequilibrium for these two aspects, and the method basically “tell individuals apart” by putting them into different groups, using a Bayesian, Markov Chain Monte Carlo approach. Moreover, the method allows for estimating the number of populations/groups represented by a given set of individuals. In practice, this is done by assuming a specific number of populations, starting with 1 and ending with a number representing the realistic maximum number of populations. For each number of populations assumed, the likelihood of the data is calculated, and the number of populations representing the highest likelihood (or where the likelihood reaches a plateau) can be regarded as the optimal number of groups. It should be noted that there are limits to the resolution, so there may be real, but genetically weakly differentiated populations that the method is unable to pick up.

We have applied this method for the total set of baseline data from all salmon farms from the Hardanger Fjord (2185 individuals representing 44 strains/ age classes and 16 microsatellite loci). The analyses were conducted assuming the presence of 1 to 18 populations, and 10 replicates were conducted for each number of populations, i.e. a total of 180 runs. Each run consisted of a burn-in of 100,000 steps, followed by 500,000 Markov Chain Monte Carlo steps.

As can be seen from Fig. 1, the probability reaches a plateau around 5 populations. Fig. 2 shows the groupings of individuals denoted by different colours. The horizontal bars denote the individual admixture proportion of each individual, i.e. the estimated proportion of the genome of each individual derived from each of the 5 groups. Fig. 2 suggests that line 1, 10, 12, 13, and 37 could be pooled into one group, 2-6, 8, 9, 16 and 16 into a second, 11, 14, 32, 42 and 44 into a third, 18, 19, 24-29, 34-36, 38, 39 and 43 into a fourth, and finally 7, 17, 20-23, 30, 31, 33, 40 and 41 could be pooled into a fifth group.

The next step is then to assign the escaped salmon as “unknown” individuals to these five pooled groups, using either STRUCTURE or “classical” assignment tests. If, for instance, the individuals are assigned to the “yellow” group, then it is known that they must be derived from one of the nine “yellow” lines, i.e. the remaining 35 farms/lines can be excluded. A further step would then be to keep the “yellow” lines separate and assign the escaped salmon to these nine samples. If subtle differences exist between lines, this could narrow down the search to even fewer salmon farms. Nevertheless, 100% precise assignment to fish farm of origin can never be achieved, if the same broodstock is used by different farms; assignment tests cannot identify genetic differences if none are present.

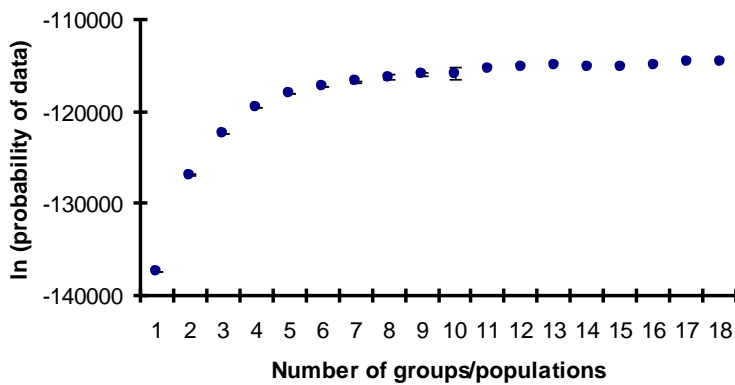
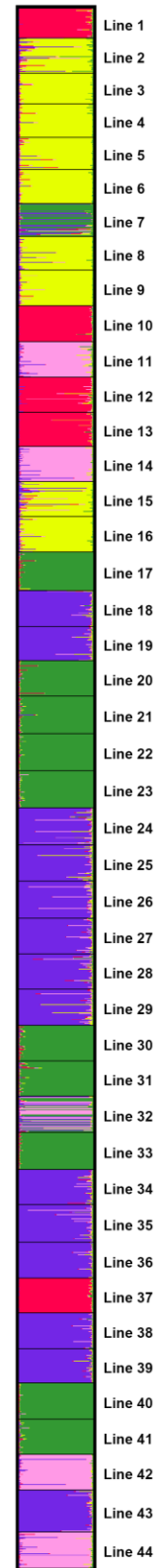


Fig. 1. Probability of the data assuming the presence of 1-18 groups/populations. The probability plateaus around 5 groups/populations, and this number captures most of the biological information in the data.

Fig. 2. Individual admixture proportions of 44 samples/lines (2185 individuals) of farmed salmon from the Hardanger Fjord, calculated assuming the presence of 5 groups/populations and using STRUCTURE 2.2.





Thus, using either STRUCTURE alone or combining it with “classic” assignment tests using a hierarchical set of analyses (Vaha *et al.* 2007) would be a good approach for very complicated cases of escapes, such as the Hardanger Fjord with numerous fish farms. The statistical power of STRUCTURE can be further increased by using linked loci (Falush *et al.* 2003). The data generated in TRACES do not involve linked microsatellite loci; indeed, this would be problematic for “classical” assignment tests. However, it is expected that using even more markers and including linked loci could lead to very high assignment power using STRUCTURE. For instance, with current technology it is realistic to use >> 100 SNP (single nucleotide polymorphism) markers of known gametic phase, and such markers are available in large numbers for Atlantic salmon.

The use of other assignment methods has also been evaluated. BAPS (Corander *et al.* 2004) can perform analyses quite similar to STRUCTURE and is considerably faster. However, it has a tendency to identify more groups than STRUCTURE, seemingly for no obvious biological reason. Consequently, STRUCTURE appears more rigorous and would seem the better choice.

BAYES (Pella & Masuda 2001) represents a combination of mixed-stock analysis and assignment tests. First, the mixed-stock proportions – in this case of escaped salmon – would be calculated and, second, individuals are assigned to fish farms conditional on the mixed-stock proportions. This appears to be a very useful method for addressing biological and management issues (Koljonen *et al.* 2005), but in the case of “forensics” it could be argued that a high probability of individual assignment is redundant, as this is based on estimated mixed-stock proportions, which would already beforehand have identified specific farms as possible sources of escapes. In other words, the usefulness of this method in “forensics” cases might be questioned.

Finally, we have evaluated the use of individual assignment based methods for detecting ongoing gene flow from fish farms to wild populations. BAYESASS (Wilson & Rannala 2003), a Markov Chain Monte Carlo based method, is particularly useful for this purpose. The principle is to identify immigrants in populations, i.e. first-generation immigrants and offspring of immigrants one generation back in time. Migration rates are then estimated based on the proportion of immigrants. The method has not been applied specifically to salmon populations, but it has been used for estimating migration rates among brown trout populations in the Hardanger Fjord (Fig. 3). In this case, the method detected highly asymmetrical gene flow from the two largest populations (Granvin and Etne) to the other, relatively smaller populations (Hansen *et al.* 2007). There are several new developments within this field (Faubet & Gaggiotti 2008) which may further make it realistic to monitor gene flow from escaped farmed salmon to wild populations.

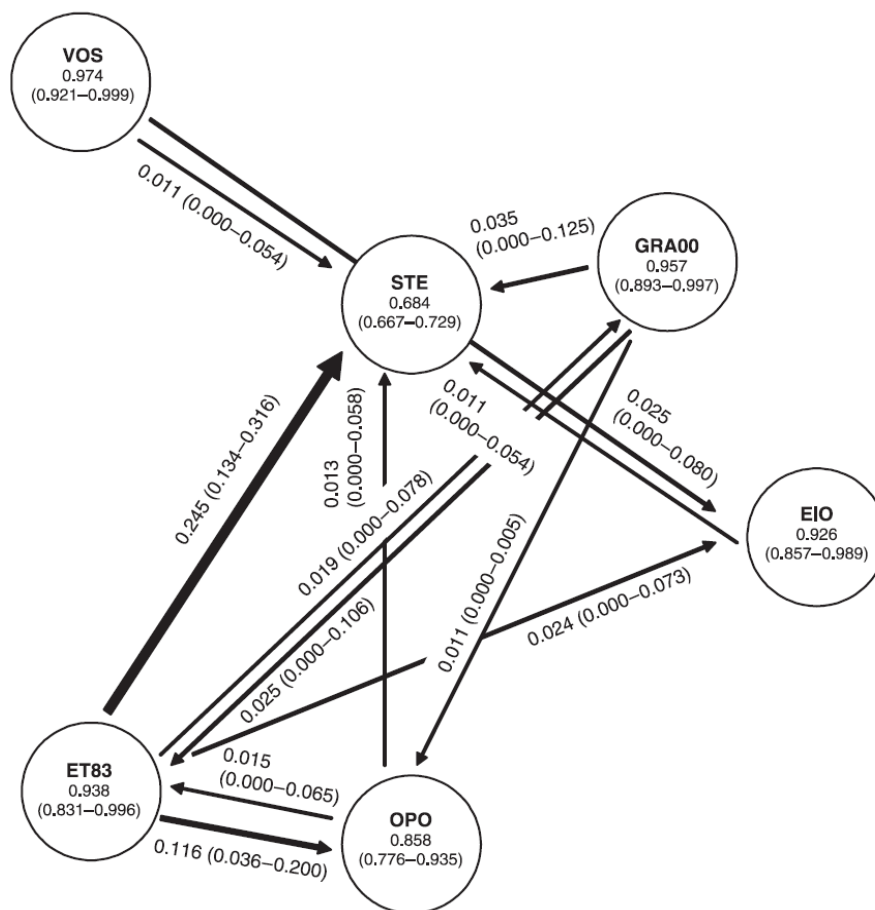


Fig. 3. Migration rate ( $m$ ) between brown trout populations from the Hardanger Fjord, estimated using BAYESASS. 95% confidence intervals are shown in parentheses. Numbers within circles denote the proportion of nonimmigrants within populations. For clarity of presentation  $m$  values less than 0.01 are not shown (from Hansen *et al.* 2007).

### Reference List

Corander, J., P. Waldmann, P. Marttinen and M. J. Sillanpaa. 2004. BAPS 2: enhanced possibilities for the analysis of genetic population structure. *Bioinformatics*, 20: 2363-2369.

Cornuet, J. M., S. Piry, G. Luikart, A. Estoup and M. Solignac. 1999. New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics*, 153: 1989-2000.

Falush, D., M. Stephens and J. K. Pritchard. 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164: 1567-1587.

Faubet, P. and O. E. Gaggiotti. 2008. A new Bayesian method to identify the environmental factors that influence recent migration. *Genetics*, 178: 1491-1504.

Glover, K. A., O. T. Skillbrei and Ø. Skaala. 2008. Genetic assignment identifies farm of origin for Atlantic salmon *Salmo salar* escapees in a Norwegian fjord. *Aquaculture*, in press.

Hansen, M. M., O. Skaala, L. F. Jensen, D. Bekkevold and K. L. D. Mensberg. 2007. Gene flow, effective population size and selection at major histocompatibility complex genes: brown trout in the Hardanger Fjord, Norway. *Mol. Ecol.*, 16: 1413-1425.

Koljonen, M. L., J. J. Pella and M. Masuda. 2005. Classical individual assignments versus mixture modeling to estimate stock proportions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) catches from DNA microsatellite data. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 62: 2143-2158.

Pella, J. and M. Masuda. 2001. Bayesian methods for analysis of stock mixtures from genetic characters. *Fishery Bulletin*, 99: 151-167.

Pritchard, J. K., M. Stephens and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.

Vaha, J. P., J. Erkinaro, E. Niemela and C. R. Primmer. 2007. Life-history and habitat features influence the within-river genetic structure of Atlantic salmon. *Mol. Ecol.*, 16: 2638-2654.

Wilson, G. A. and B. Rannala. 2003. Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics*, 163: 1177-1191.

## Utvikling av SNPer til sporing av rømt oppdrettslaks (WP-2)

*Bjørn Høyheim, Norges veterinærhøgskole*

---

### **Bakgrunn:**

Vår del av prosjektet gikk på utvikling av SNPer (Single Nucleotide Polymorphism) til benyttelse i sporing av rømt oppdrettslaks.

Målsetningen var å utvikle et sett på 20 SNPer ferdig evaluert og klare til bruk for dette formålet. Evalueringen skulle bestå i testing av SNPene i et panel av laks bestående av både oppdretts- og villfisk. Deretter ville vi sette så mange som mulig av disse på det genetiske kartet. Dette ville både gi et mål på hvor robuste SNPene var som markører, dvs hvor lett de var å genotype (jobbe med), hvilket informasjonsnivå vi kunne forvente fra den enkelte SNPen samt at kartleggingen ville gi oss informasjon om hvor uavhengige disse var. Til slutt ville de beste markørene bli testet i en halvautomatisert prosedyre (TaqMan).

I utgangspunktet ville vi starte med ca 50 SNPer som gikk igjennom hele valideringsrekken slik at målet på 20 SNPer skulle gi et sett med meget gode, robuste og uavhengige markører.

Som bakgrunn for dette arbeidet benyttet vi ressursene som var utviklet gjennom EU-prosjektene SALMAP og SALGENE samt gjennom det norske laksegenomprosjektet [Salmon Genome Project (SGP)]. Gjennom disse prosjektene har vi på NVH bl. a. utviklet ca 700 mikrosatelitter og konstruert et genkart for laks ([www.salmongenome.no](http://www.salmongenome.no) samt submittet to BMC Genomics), vi har sekvensert over 70 000 ESTer samt 1 600 full-lengde cDNA sekvenser (gener) (Hagen-Larsen et al 2005 BMC Genomics 6:171; Adzhubei et al 2007 BMC Genomics 8:209 samt to artikler under arbejde). I tillegg har vi etablert diverse pipelines for behandling av sekvensdata samt for utforskning av SNPer.

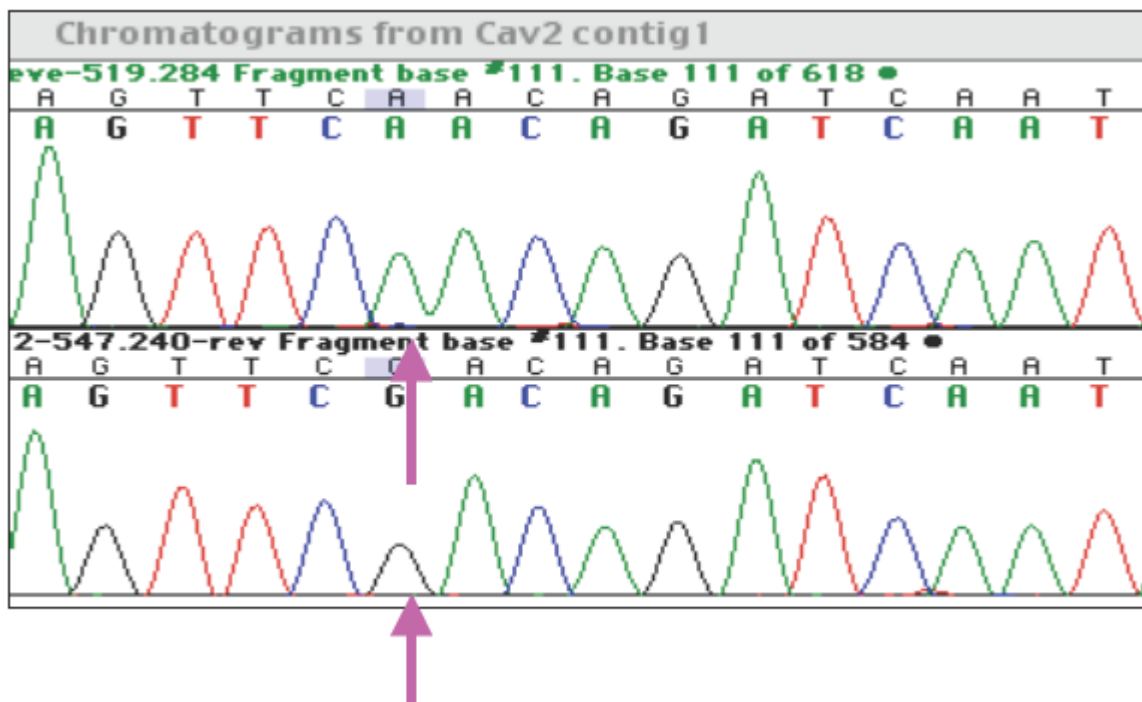
Disse ressursene er benyttet til å lete etter SNPer samt for validering av disse (Hayes et al 2007 Aquaculture 265, 82-90).

### **Resultater:**

SNPer ble detektert via våre pipelines på vår hjemmeside ([www.salmongenome.no](http://www.salmongenome.no)).

- Dette arbeidet resulterte i 208 mulige SNPer som ble testet i et populasjonsmateriale bestående av 12 oppdrettslaks og 12 vill-laks.

Bildet under viser en mulig SNP i caveolin genet hos laks



Alle data ble manuelt gjennomgått for å validere dataene best mulig før videre testing.

- 50 ble godkjent etter testing i populasjonsmaterialet. Tabell 1 (i Appendix) gir en oversikt over resultatene etter testing av de første 34 SNPene.

- I Hardy-Weinberg likevekt

- Representerer autosomale, single-locus, bi-alleliske polymorfismer i laks

- Beregnet nytteverdi av de enkelte SNP-loci dersom de benyttes som rettsmedisinske markører

- PD- Kombinert Power of Discrimination for alle autosomale markører var > 0.9999

- PE: Kombinert Power of Exclusion for alle autosomale markører var > 0.995

Alle validerte markører (SNPer) ble kartlagt i vårt familiemateriale:

- Gjennom SALMAP og SGP hadde vi tidligere utviklet et genkart som bestod av 415 markører, vesentlig mikrosatelitter:

Av de 50 SNPene vi aksepterte etter validering i populasjonsmaterialet fikk vi kartlagt 40, de andre var ikke informative (polymorfe) i vårt familiemateriale. Av disse var 34 uavhengige SNPer, dvs fra forskjellige områder i genomet og derfor meget godt egnet for bruk til sporing. Ut fra disse har vi utviklet 20 SNPer i en TaqMan assay. De resterende 14 SNPene (pluss ca 50 andre vi har utviklet/kartlagt gjennom andre prosjekter) er også godt egnet for bruk i en TaqMan assay til benyttelse i sporingssammenheng.

## Appendix:

Tabell 1

Markør ID	2132	685	754	1341	1383	1823	2283	2007	1922
Polymorph	A/C	T/C	A/G	G/T	A/G	G/C	A/C	T/C	A/T
Freq	0.63	0.56	0.74	0.59	0.56	0.71	0.73	0.53	0.56
X <sup>2</sup>	0.20	2.31	0.67	2.74	0.24	3.08	0.15	1.32	2.77
PD	0.618	0.660	0.532	0.499	0.594	0.571	0.562	0.665	0.657
PE	0.129	0.084	0.143	0.358	0.052	0.052	0.093	0.070	0.061

Markør ID	1821	203	1433	2160	2425	563	1807	1838	1934
Polymorph	A/G	A/G	T/C	A/G	A/T	A/G	A/G	A/G	A/G
Freq	0.96	0.70	0.83	0.68	0.50	0.71	0.90	0.70	0.60
X <sup>2</sup>	0.04	1.63	0.24	1.75	1.00	0.64	2.94	0.51	0.38
PD	0.147	0.585	0.434	0.602	0.560	0.577	0.269	0.586	0.621
PE	0.006	0.064	0.045	0.072	0.291	0.084	0.011	0.091	0.140

Markør ID	253	1120	RBP7a.2	STARa.3	5024	184	239	3790
Polymorph	Indel	T/C	T/C	A/G	G/T	A/C	A/G	Indel
Freq	0.70	0.90	0.88	0.77	0.50	0.60	0.59	0.59
X <sup>2</sup>	2.11	0.32	1.58	0.18	1.00	2.81	0.01	0.01
PD	0.665	0.330	0.322	0.518	0.664	0.645	0.320	0.623
PE	0.085	0.032	0.018	0.105	0.099	0.064	0.030	0.163

Markør ID	1714	7539	1844	2310	3169	1019	119	4818
Polymorph	A/G	A/C	A/C	A/G	T/C	T/C	A/G	mtA/G
Freq	0.58	0.60	0.79	0.83	0.74	0.78	0.70	0.70
X <sup>2</sup>	0.02	2.26	0.00	3.58	0.20	0.12	0.79	
PD	0.611	0.517	0.497	0.416	0.553	0.508	0.434	
PE	0.188	0.322	0.078	0.023	0.078	0.069	0.071	

Freq – Frequency of most common allele

X<sup>2</sup> - chi-squared value from Hardy-Weinberg distribution

PD – Power of Discrimination

PE – Power of Exclusion

## Identifisering av rømt oppdrettslaks ved bruk av stabile isotoper (WP 3A)

Kevin G. Butterworth<sup>1\*</sup>, Bengt Finstad<sup>2</sup>, R. Scott McKinley<sup>3</sup>

<sup>1</sup>British Columbia Centre for Aquatic Health Sciences, PO Box 277, Campbell River, British Columbia, Canada, V9W5B1.

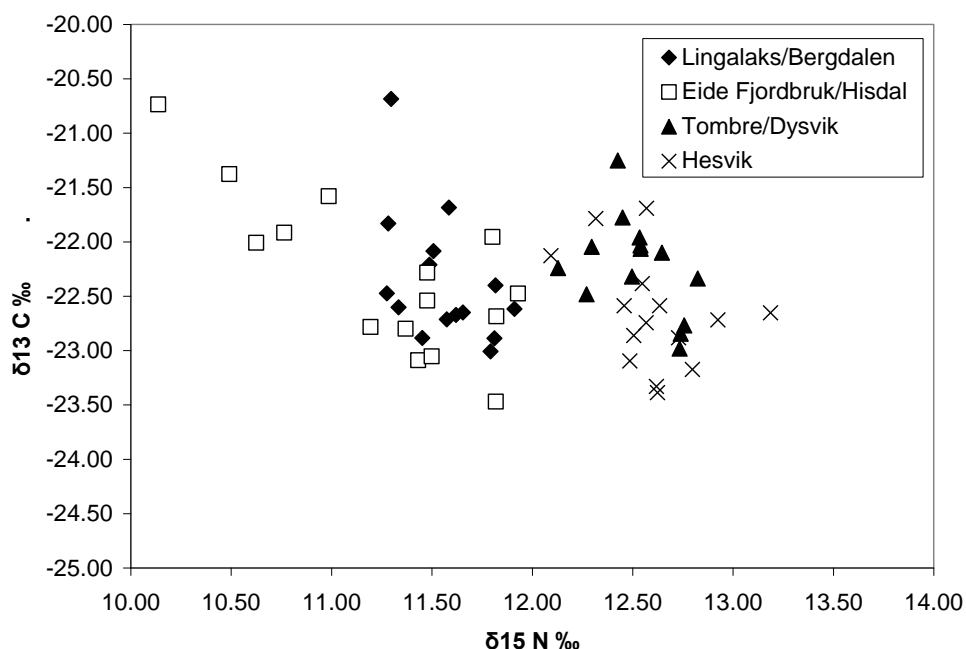
<sup>2</sup>Norwegian Institute for Nature Research, Tungasletta 2, N-7485 Trondheim, Norway

<sup>3</sup>The Centre for Aquaculture and Environmental Research, 4160 Marine Drive, West Vancouver, British Columbia, Canada, V7V1N6.

Formålet med denne undersøkelsen var å bruke stabile isotoper som et verktøy for å differensiere mellom oppdrettslaks (*Salmo salar*) fra ulike oppdrettsanlegg og om mulig bruke dette som et verktøy for å spore rømt oppdrettslaks. Dette er basert på tidligere undersøkelser som har vist at villfisk har forskjellige uttrykk for karbon- og nitrogen isotoper (Hobson 1999).

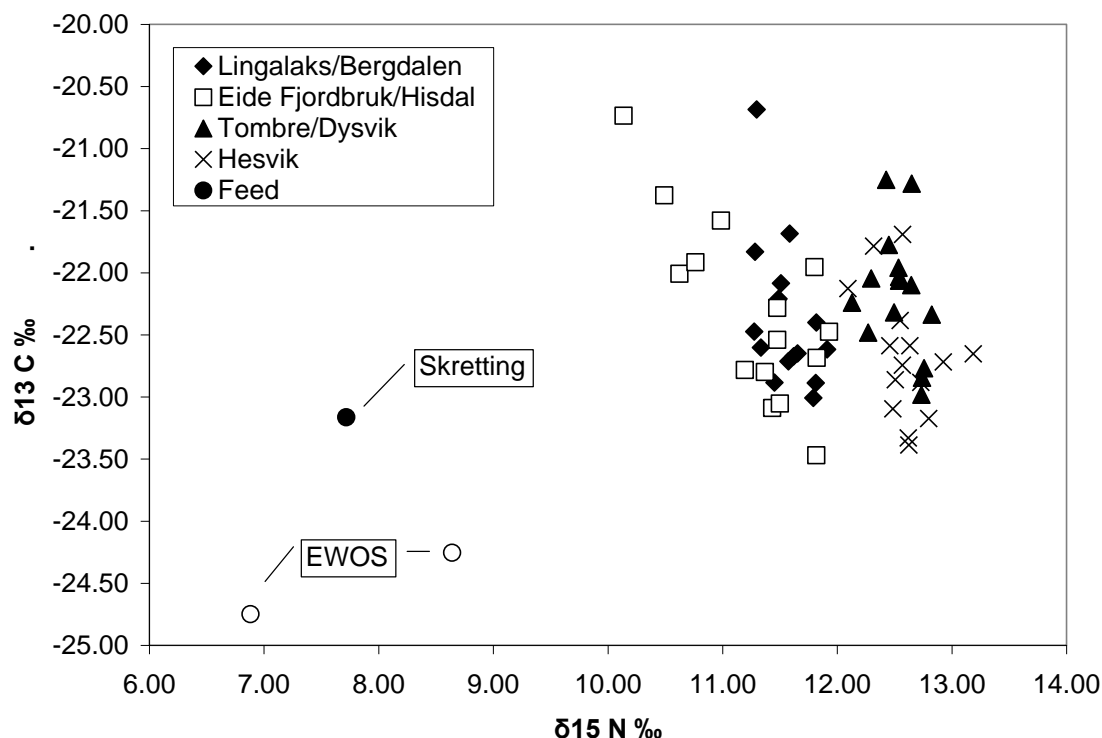
Resultatene viste at de gjennomsnittlige  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  nivåene hos laks lå i de områdene som tidligere er rapportert av McCarthy og Waldron (2000) for brunørret, *Salmo trutta* ( $-25.7 \pm 1.1\% \leq \delta^{13}\text{C} \leq -19.9 \pm 1.9\%$ ;  $9.2 \pm 1.8\% \leq \delta^{15}\text{N} \leq 14.3 \pm 1.5\%$ ).

Signaturene av  $\delta^{15}\text{N}$  hos laksen ved anleggene Lingalaks/Bergdalen og Eide Fjordbruk/Hisdal var signifikant lavere enn hos laks ved anleggene Tombre/Dysvik og Hesvik (Figur 1). Det ser derfor ut til at det er mulig å bruke  $\delta^{15}\text{N}$  signaturene til å differensiere mellom laks fra disse anleggene.



Figur 1. Kombinerte  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  signaturer hos laks (*Salmo salar*) fra anleggene Lingalaks/Bergdalen, Eide Fjordbruk/Hisdal, Tombre/Dysvik og Hesvik farms i Hardangerfjorden.

Figur 2 viser de kombinerte  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  signaturene hos oppdrettslaks fra Lingalaks/Bergdalen, Eide Fjordbruk/Hisdal, Tombre/Dysvik og Hesvik i Hardangerfjorden sammenlignet med  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  signaturer for Skrettingfór ved Lingalaks (fylt sirkel) og EWOSfór brukt ved Søreid-smolt og Eide Fjordbruk (åpen sirkel).

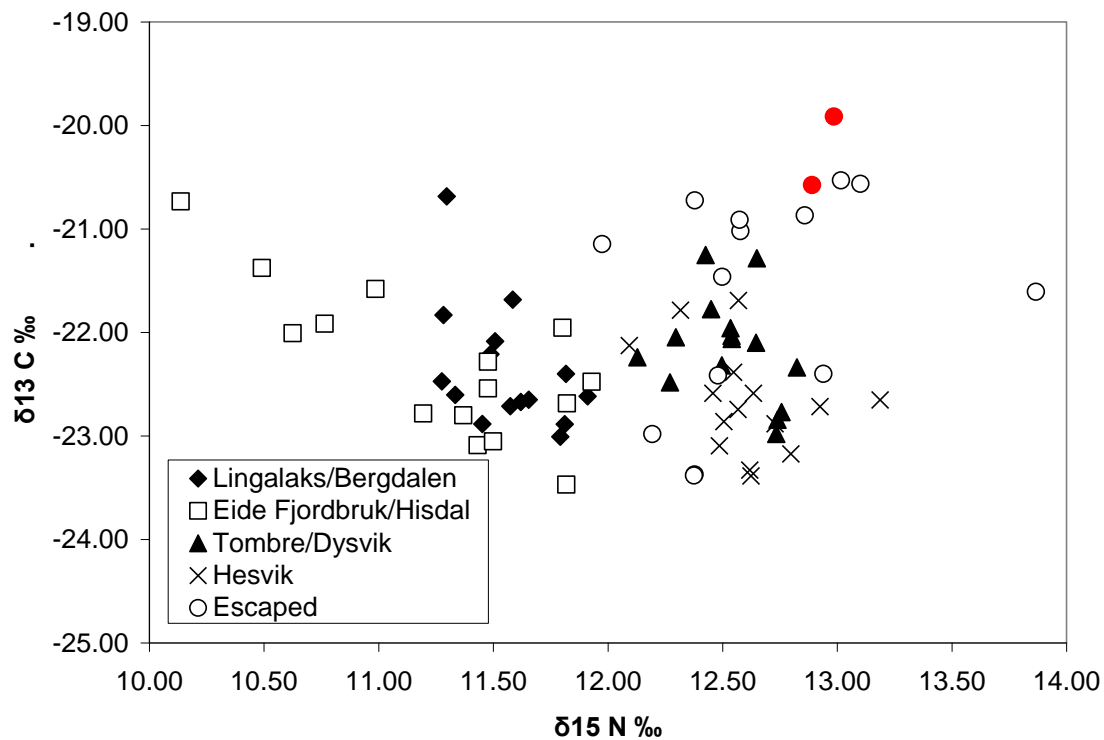


Figur 2. Kombinerte  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  signaturer hos laks (*Salmo salar*) fra anleggene Lingalaks/Bergdalen, Eide Fjordbruk/Hisdal, Tombre/Dysvik og Hesvik farms i Hardangerfjorden sammenlignet med  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  signaturer Skrettingfór (fylt sirkel) ved Lingalaks og EWOSfór brukt ved Søreid-smolt og Eide Fjordbruk (åpen sirkel).

En sammenligning av  $\delta^{15}\text{N}$  signaturene fra prøver av laks fra anleggene viste at  $\delta^{15}\text{N}$  signaturene fra rømt oppdrettslaks var signifikant forskjellige fra anleggene Lingalaks/Bergdalen og Eide Fjordbruk/Hisdal og lik de fra anleggene Tombre/Dysvik og Hesvik (Figur 3). I tillegg var  $\delta^{15}\text{N}$  signaturene fra de to villaksene (12.89; 12.99) høyere enn 99%CI fra hver av anleggene (99%CI<12.78). Det må tas forbehold om at videre prøveinnsamlinger er nødvendig for å klarere definere denne sammenhengen. Det var ingen signifikante forskjeller i  $\delta^{13}\text{C}$  signaturene mellom anleggene. Dette er forventet pga. at



anleggene bruker pellets som har tilnærmet lik mengde karbon som vises fra figur 2.



Figur 3. Kombinerte  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  signaturer hos laks (*Salmo salar*) fra anleggene Lingalaks/Bergdalen, Eide Fjordbruk/Hisdal, Tombre/Dysvik og Hesvik farms i Hardangerfjorden sammenlignet med  $\delta^{13}\text{C}$  og  $\delta^{15}\text{N}$  signaturer fra rømt oppdrettslaks fanget i Hardangerfjorden (åpen sirkel). Kombinerte  $\delta^{13}\text{C}$  og  $\delta^{15}\text{N}$  signaturer fra villaks ( $n=2$ ) identifisert ved skjellanalyser er representert med røde sirkler.

Det var signifikante forskjeller i  $\delta^{13}\text{C}$  signaturene mellom oppdrettslaks fra anleggene og rømt fisk. Endringer i  $\delta^{13}\text{C}$  er en indikasjon på mengden karbon assimilert fra den primære næringskilden (March og Pringle 2003). Forskjellen er forventet i og med at den rømte fisken tar til seg dietten i den ville tilstanden og dermed endrer  $\delta^{13}\text{C}$  signaturen over tid (Butterworth *et al.* 2004). Jo lengre den rømte fisken er i vill tilstand, jo mer uttrykt vil skiftet i  $\delta^{13}\text{C}$  signaturen bli opp mot den ville dietten. Ni av de rømte fiskene hadde  $\delta^{13}\text{C}$  signaturer utenfor 99% CI (-21.83 – -23.01‰) sammenlignet med laks tatt fra anleggene. Disse dataene viser at denne laksen hadde spist en diett i vill tilstand over lengre tid og dermed endret sin  $\delta^{13}\text{C}$  signatur. I tillegg viste dataene at  $\delta^{13}\text{C}$  signaturene (-19.91; -20.58) fra laksen som vha. skjellanalyser ble identifisert som vill var signifikant høyere enn 99% CI (-22.4 – -20.94‰) enn for den rømte laksen. Disse dataene viser at det kan være mulig å differensiere mellom vill og rømt laks ved å bruke  $\delta^{13}\text{C}$  signaturer. Imidlertid er det nødvendig med flere innsamlinger for å teste denne hypotesen.

$\delta^{15}\text{N}$  signaturen til en rømt fisk var på 13.87‰ som er utenfor det 99% konfidensintervallet for  $\delta^{15}\text{N}$  signaturer fra laksen fra alle de 4 anleggene ( $10.89 \leq 99\% \text{CI} \leq 12.78$ ).

Disse preliminære dataene viser at det er mulig å bruke  $\delta^{15}\text{N}$  signaturer til å differensiere mellom anlegg. Denne metodikken kan også brukes til å spore rømt fisk fra anlegg men det trengs ytterligere undersøkelser for å verifisere dette. I tillegg er det mulig å bruke  $\delta^{13}\text{C}$  signaturer til å differensiere mellom laks fra anlegg, rømt laks og villaks. Imidlertid pga. det

lave antallet villaks som ble fanget er det ikke klart om det er mulig å differensiere mellom rømt laks og villaks med nøyaktighet vha.  $\delta^{13}\text{C}$  signaturer. Videre innsamling av data er nødvendig for å teste denne hypotesen. Resultatene fra denne undersøkelsen kan ha viktige implikasjoner for å overvåke rømt oppdrettsfisk og den påfølgende utviklingen av forvaltningsmessige strategier for å redusere rømminger av oppdrettsfisk.

## Referanser

- Butterworth, K. G., Li, W. & McKinley, R. S. 2004. Carbon and nitrogen stable isotopes: a tool to differentiate between *Lepeophtheirus salmonis* and different salmonid host species? *Aquaculture* 241(1 - 4): 529 - 538.
- Hobson, K. A. 1999. Tracing origins and migration of wildlife using stable isotopes: a review. *Oecologia* 120(3): 314-326.
- March, J. G. & Pringle, C. M. 2003. Food web structure and basal resource utilization along a tropical island stream continuum, Puerto Rico. *Biotropica* 35(1): 84-93.
- McCarthy, I. & Waldron, S. 2000. Identifying migratory *Salmo trutta* using carbon and nitrogen stable isotope ratios. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 14: 1325-1331.

## Lipidanalyser for å identifisere opprinnelsen av rømt laks (WP-3B)

*Iciar Martinez, I., Marit Aursand, Inger Beate Standal, I.B., David Axelson(SINTEF)  
and Bengt Finstad (NINA)*

---

### Sammendrag av resultater

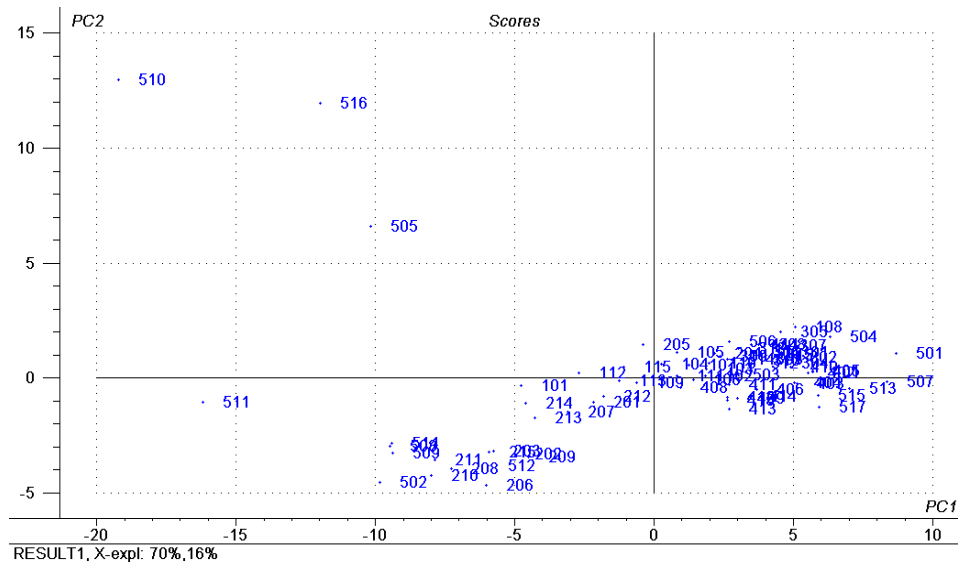
Fettsyreprofil ved GC og  $^{13}\text{C}$  NMR av lipider ekstrahert fra 15 fisk fra hver av 4 anlegg i Romsdalsfjord (anlegg 1, Lingalaks/Bergdalen; anlegg 2, Eide Fjordbruk/Hisdal; anlegg 3, Tombre/Dysvik og anlegg 4, Hesvik) samt 17 fisk fanget i samme fjorden ble undersøkt ved SINTEF. Alle data (både GC og NMR) ble opprinnelig statistisk bearbeidet ved bruk av Principal Component Analysis (PCA) og Probabilistic Neural Network (PNN) analyser, men senere arbeider viste at Bayesian Belief Networks gav bedre klassifisering. Både ved BBN og PNN ble prøvene klassifisert i noen av de n nummer av klasser definert i modellen men BBN ga mye bedre resultater, når man brukte oppdrettet fiskens klassifisering som referanse. Dessverre er vi ikke ferdig ennå med BBN analyser av NMR data. Derfor presenterer vi her BBN analyser av GC data og PNN analyser av NMR data, men det er høyst sannsynlig at NMR resultatene presentert her ikke er så bra som de vi vil få ved bruk av BBN, og som vi forventer å ha ferdig i løpet av juni måneder. Klassifisering med disse metoder kan uansett betraktes som utmerket og varierte mellom 86.6% til 100% riktig klassifisering av fisken til deres opprinnelig anlegg med PNN analyser. Vi forventer som sagt forbedret resultater ved bruk av BBN. Data om fisk er beskrevet i Tabell 1.

Tabell 1. Data om fiskeprøver.

Fisk no	n		%Fett	Klass no	Opprinnelse/anlegg	Fôr
101-115	15		13 $\pm$ 3	1	Lingalaks, Bergdalen	Skretting optiline
201-215	15		12 $\pm$ 5	2	Eide fjordsbruk, Hisdal	Ewos
301-315	15	1 prøve ikke tilgjengelig for NMR	17 $\pm$ 2	3	Tombre, Dysvik	Skretting optiline
401-415	15	1 prøve ikke tilgjengelig for GC	17 $\pm$ 3	4	Hesvik	Ewos (Bremnes Seawash
501-517	17	Fanget fisk		5	Ukjent	Unknown

### DEL 1- Analyser av fett syrer ved GC

Fire av de fangede fiskene hadde under 10% total fett i muskel, samt en n3/n6 ratio over 10. Disse ble ved PCA (Cross-validation, centered data, visst i Figur 1) klar identifisert som forskjellige fra all annen fanget og oppdrettet fisk og betraktes derfor som ekte vill fisk.



**Figur 1.** PCA analyse av alle fiskene.

BBN analyse ble først bare utført på oppdrettet fisk. Alle fiskene ble riktig klassifisert unntatt en fisk fra anlegg 1 som ble klassifisert sammen med fiskene fra anlegg 3 (Tabell 2), som gir 98.3% riktig klassifisering av opprinnelsen. De 10 mest relevante fettsyrene for denne klassifisering oppsummeres i Tabell 3.

Tabell 2. Klassifisering av oppdrettslaks etter BBN-analyse av fettsyreprofiler analysert ved GC. Feilprosenten i klassifiseringen er 1.695%. Bare 14 fisk fra anlegg 4 ble inkludert i denne analysen.

<b>Antall fisk fra anlegg</b>	<b>Klassifisert i anlegg no</b>			
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
1	14	-	1	-
2	-	15	-	-
3	-	-	15	-
4	-	-	-	14

**Tabell. 3.-** De mest relevante fettsyrer for klassifiseringen. Det mest relevante på toppen.

<b>Fettsyre</b>
C18:2n6
C18:3n3
C20:4n6
C22:1n9
C18:4n3
C20:3n3
C22:6n3
C16:1n7
C20:5n3
C18:0

Modellen ble videre brukt for å klassifisere fanget fisk. I dette tilfelle ble det testet om noe av den fanga fisken klassifisert sammen med fisk fra de 4 anleggene (klasse 1 til 4) eller ikke (klasse 5). Resultatene vises i Tabell 4.

Tabell 4. Klassifisering av fanget fisk ved BBN av fettsyrer ved GC.

Antatt opprinnelse av fanget fisk				
Anlegg 1	Anlegg 2	Anlegg 3	Anlegg 4	Andre
0	4 fisk	1 fisk	3 fisk	9 fisk
	508,509,512 og 514	506	507, 515 og 517	

### Konklusjoner av BBN analyser av GC data

98.6% av fiskene ble riktig klassifisert ved denne analysen. 8 av den fanga fisken ble allokert til 3 av anleggene, mens 9 fisk ikke tilhørte noen av dem. Av disse 9, betraktes 4 som ekte villfisk.

### DEL 2- Lipidanalyser ved $^{13}\text{C}$ NMR og PNN databehandling

De viktigste variablene (kjemiske skift) fra  $^{13}\text{C}$  NMR ble bestemt ved PLS-UVE. I PNN-analysen ble 249 variabler brukt som inndata (input-data) av de opprinnelig 10.000 kjemiske skift verdier fra  $^{13}\text{C}$  NMR spektrene.

Bruk av PNN analyse på  $^{13}\text{C}$ -NMR data ga 86.6% riktig klassifisering av prøver: Data fra all oppdrettsfisken ble brukt for å lære opp en modell og resultatene er gitt i Tabell 5. Feilklassifiseringen varierte mellom 13.3% for anlegg 1 til 0% for anlegg 2.

Tabell 5. PNN analyser på 59 oppdrettet fisk basert på NMR analyse. Numrene "1" til "4" henviser til oppdrettsanleggene 1 til 4.

Agreement Matrix (Contingency Table) Statistics:						
	Actual "1"	Actual "2"	Actual "3"	Actual "4"	Total	Positive Predictive Value
Classified as "1"	13	1	0	1	15	86.67%
Classified as "2"	0	14	0	0	14	100.0%
Classified as "3"	1	0	14	0	15	93.33%
Classified as "4"	1	0	0	14	15	93.33%
Total	15	15	14	15	59	
True-pos. ratio	0.8667	0.9333	1.0	0.9333		
False-pos. ratio	0.0455	0.0	0.0222	0.0227		
True-neg. ratio	0.9545	1.0	0.9778	0.9773		
False-neg. ratio	0.1333	0.0667	0.0	0.0667		
Sensitivity	86.67%	93.33%	100.0%	93.33%		
Specificity	95.45%	100.0%	97.78%	97.73%		

Denne modellen ble brukt for å klassifisere alle prøver, både oppdrettet og fanget. Resultater vises i Tabell 6. Som beskrevet tidligere, 5 klasser ble definert, en for hvert anlegg og en for

ukjent opprinnelse (vill eller et forskjellig anlegg). Tabell 6 viser sannsynligheten for at hver enkelt fisk tilhører de ulike klassene.

**Tabell 6.** Sannsynlighet av opprinnelsen av fanget fisk basert på NMR analyser.

Fisk no	Sannsynlighet					Klassifisert som om det var fra:
	Anlegg 1	Anlegg 2	Anlegg 3	Anlegg 4	Andre	
501	0	0	0	0	1	Ukjent
502	0	0	0	0	1	Ukjent
503	0	0	0	0	1	Ukjent
504	0	0	0	0	1	Ukjent
505	0.009	0	0	0	0.991	Ukjent
506	0	0	0	0	1	Ukjent
507	0	0	1	0	0	Anlegg 3
508	0	0	0	0	1	Ukjent
509	0	0	0	0	1	Ukjent
510	0	0	0	0	1	Ukjent
511	0	0	0	0	1	Ukjent
512	0	1	0	0	0	Anlegg 2
513	0	0	0	0	1	Ukjent
514	0	0	0	0	1	Ukjent
515	0	0	0	0	1	Ukjent
516	0	0	0	0	1	Ukjent
517	0	0	0	0	1	Ukjent

### Konklusjoner

Resultater av PNN behandling av NMR data stemte overens med resultater av BBN av GC data, men de sistenevnte visste seg å gi bedre resultater, siden flere fisk av kjent opprinnelse ble riktig klassifisert. Siden NMR gir mer informasjon enn GC analyse, forventer vi at opprinnelsen av flere fisk blir oppdaget ved bruk av NMR enn ved bruk av GC. Resultater fra BBN analyser på NMR data vil gi svar på dette.

Uansett, bare med BNN analyse av GC data er vi i stand til å klassifiser riktig opprinnelsen av 98.6% av prøvene.

### Referanser

Martinez, I., Standal, I.B., Aursand, M., Axelson, D.E. & Finstad, B. (2008) Identification of the Farm Origin of Salmon by Using Fatty Acid and High Resolution <sup>13</sup>C NMR Profiles. *38<sup>th</sup> WEFTA Annual meeting, 17-19 September 2008, Firenze, Italy.*

# Sporing av rømt oppdrettslaks ved hjelp av fettsyreprofil av vevslipider (WP-3C)

*Otto Grahl-Nielsen  
Kjemisk institutt, Universitetet i Bergen*

---

## **Innledning**

På bakgrunn av at de relative mengdene av et antall, 20 – 30, av de vanligste fettsyrene, fettsyreprofilen, i utvalgte vev kan benyttes til identifikasjon av arter og populasjoner av marine organismer [referanser], skulle denne identifikasjonsmetoden også kunne benyttes til å identifisere laks som har rømt fra oppdrettsanlegg. Fettsyreprofilen i vev fra rømt laks må da sammenlignes med fettsyreprofilen i vev fra laks fra anlegg hvorfra den kan ha rømt. Forutsetningen for at metoden skal fungere er 1) at det er signifikante forskjeller mellom fettsyreprofilen hos laks i de aktuelle anlegg/merder, og 2) at fettsyreprofilen ikke endrer seg i løpet av den tiden laksen er på rømmen. Denne undersøkelsen ble utført med støtte fra TRACES for å finne frem til et egnet vev og for å finne ut om de to forutsetningene er holdbare.

Undersøkelsen ble gjennomført i fire trinn: Først ble fettsyreprofilen fra tre typer vev, hjerte, innvollsfett og fettfinne, fra laks med forskjellig opphav fra fire forskjellige merder i anlegg i Hardangerfjorden undersøkt. Deretter ble fettsyreprofilen i fettfinnen fra rømt laks som var fanget i Romsdalsfjorden sammenlignet med profilen i fettfinnen fra laks fra 16 merder i 7 anlegg i fjorden hvorfra laksen kunne ha rømt. Så ble fettsyreprofilen i skjell fra laks fra to stammer fra to anlegg i Hardangerfjorden sammenlignet. Tilslutt ble det undersøkt nøyere hvorledes fettsyreprofilen i skjell forandrer seg over tid, ved å ta prøver i løpet av en periode på 19 dager, både fra laks som ble sultet i denne perioden og fra laks som ble foret regelmessig i denne perioden.

## **Metodikk**

For analysen tas det ut en liten del, 10 – 50 mg, av det aktuelle vev. For prøver av hjertevev ble hjertet først vasket i vann for fjerning av blod, og prøven ble tatt fra spissen på hjertet. Fett på utsiden av hjertet ble skåret bort. For å ta prøver av fettfinnen ble denne først skåret av og prøven ble deretter tatt fra forkant av finnen. Skinnen var med i prøven. Prøven av innvollsfettet ble tatt av den forreste fliken av fettene som ligger utenpå innvollene.

Skjell ble skrapet av under sidelinjen på laksen med en spatel og spylt med sjøvann ned i et lite glass. De ble deretter vasket omhyggelig med destillert vann i prøveglassene for å fjerne alt slim og partikler. De ble så lagret i rent vann i kjøleskap over natten og neste dag lufttørket på filterpapir i 2 timer, hvorefter 10 skjell fra hver laks ble benyttet til analysen. Vekten av 10 skjell varierte mellom 4 og 12 mg.

Vevsprøvene ble overført til 15 mL tykkveggete reagensrør med skrukork med tefloninnlegg og umiddelbart tilsatt 0.5 mL tørr metanol som inneholdt 2 N HCl (tilsatt som gass). Prøvene ble metanolysert i 90 °C i 2 timer, hvorpå de dannete fettsyremetylestere ble ekstrahert over i heksan. Heksanløsningen ble gasskromatografert på en høytoppløsende kapillarkolonne med flammeionisasjonsdeteksjon. Et antall, varierende med vevstype, fettsyrer, som metylestere, ble identifisert, integrert og dataene ble overført til programmet SIRIUS for multivariat prinsippkomponentanalyse. Dataene ble først normalisert, slik at mengden av hver fettsyre

ble uttrykt som prosent av summen av alle fettsyrene for hver prøve. Dataene ble deretter transformert ved at logaritmen til hvert tall ble tatt.

Prinsipalkomponentanalyse foretas ved at prøvene først plasseres i et mangedimensjonalt rom, men én koordinat for hver fettsyre. Gjennom tyngdepunktet av prøvene legges så inn prinsipalkomponenter, den først i den retningen hvor det er størst spredning mellom prøvene, den andre vinkelrett på den første, i den retningen hvor spredningen mellom prøvene er nest størst. De to prinsipalkomponentene beskriver oftest 60 til 80 prosent av spredningen mellom prøvene. Dermed er antall variable redusert til to, som beskriver den systematiske spredningen mellom prøvene. Prøvene projiseres så inn på planet som beskrives av første og andre prinsipalkomponent. De resulterende PC-plott er vist i de vedlagte figurene.

For å se etter små forskjeller mellom to eller flere grupper av prøver ble det lagt inn nye variable, en for hver gruppe. Disse kalles avhengige variable, idet prøvene fra en gruppe ble gitt verdien +1 i "sin" variabel, og prøvene fra de andre gruppene ble gitt verdien -1 for denne variabelen. Prøvene ble så plassert i et mangedimensjonalt rom, med en dimensjon for hver av fettsyrene, for beregning av prinsipalkomponenter, som beskrevet ovenfor, men nå kalles komponentene PLS-koordinater (Partial Least Square). Disse går gjennom tyngdepunktet av alle prøvene, på en slik måte at de passer best med variasjonen mellom de avhengig variablene. Dermed vil den første PLS-koordinaten gå i den retningen hvor forskjellen er størst mellom de aktuelle gruppene av prøver. Den andre koordinaten er vinkelrett på den første og i den retningen hvor forskjellen mellom gruppene er nest størst. Prøvene projiseres så inn på planet som dannes av de to PLS-koordinatene.

## **Resultater og diskusjon**

### *Tre vev fra laks fra fire oppdrettsanlegg*

I PC-plottene er laks fra hvert anlegg nummeret med forskjellige hundretall, og også vist med forskjellige farger. Når alle prøvene beregnes samlet skiller laksen fra 200-anlegget seg klar fra de andre for alle de tre vevstypene, Figur 1. For hjertevevet og innvollsfettet skiller også 400-laksen seg ut. For fettfinen er ikke skillet mellom 400-laksen, på den ene siden, og 100- og 300-laksen, på den andre, så klart, Figur 1.

Laksen fra 100-, 200- og 300-gruppen ble beregnet uten at 200-laksen var med. Da skiller 400-laksen seg klart fra 100- og 300-laksen for både hjerte og innvollsfett, mens skillet ikke er fullt så tydelig for fettfinen, Figur 2. For å se etter eventuelle forskjeller mellom 100- og 300-laksen ble disse beregnet for seg. Fettsyresammensetningen i hjertevevet ser ikke ut til å være forskjellig, mens skillet er noenlunde fullstendig for fettfinnevevet, bortsett fra laks 108, Figur 3. For innvollsfettet skiller laks 108 seg også ut, og skillet mellom de øvrige 100- og 300-laksene er heller ikke fullstendig.

Foreløpig er det bare utført prinsipalkomponentanalyse med alle de 22 fettsyrene inkludert. Det er her ikke lagt noen føringer på beregningen. Det er en såkalt "unsupervised learning" metode. Når det legges inn en føring i form av en avhengig variabel som angir hvilken gruppe laksen hører til, blir alle de fire gruppene skilt fra hverandre, for alle tre vevstypene, med unntak av laks 108. (Disse plottene er ikke vist.) Dette er Partial Least Square, PLS, og er altså en "supervised learning" metode.

En metode for å *kvantifisere* forskjellene er å lage romlige modeller av prøvene innen hver gruppe, såkalt SIMCA (Soft Independent Modelling of Class Analogy). Avstanden til en modell for en laks beregnes som RSD (Residual Standard Deviation). Er RSD for en laks mindre enn RSD for modellen, ligger laksen innenfor modellen. Når det foreligger



referanseprøver fra "mistenkte" anlegg, er det på denne måten det vil være aktuelt å identifisere rømt laks.

Det kan være aktuelt å plukke ut de fettsyrene som skiller best mellom anleggene og basere identifikasjon på disse. Fettsyrene 18:2n6 og 18:3n3, som skriver seg fra planteoljer, finens det mye av i fiskefôr, og de ser ut til å ha en betydning for skillet mellom gruppene av laks i dette tilfelle.

Laks fra de fire anleggene har altså forskjellig fettsyreprofil. Dette gjelder for både hjerte, fettfinne og innvollsfett. Laks fra 200-anlegget skiller seg ut fra de tre andre anleggene. Av disse tre skiller 400-anlegget seg ut fra de to andre, spesielt for hjertevev og innvollsfett.

#### *Rømt laks i Romsdalsfjorden*

I dette tilfelle ble prøver av fettfinne benyttet til analysene. Fettfinnen ble valgt fordi denne kan fjernes uten å slakte laksen. Basert på 17 fettsyrer kunne de fleste av 16 merdene fra 7 oppdrettsanlegg skilles fra hverandre. Imidlertid viste det seg at fettsyreprofilene fra de rømte laksene ikke falt sammen med profilene fra laksene i noen av de 16 merdene. I ettertid ble det funnet at fettsyreprofilen varierte sterkt alt etter hvor på fettfinnen vevsprøven ble tatt for analyse. Finnene har altså ikke en homogen sammensetning av fettsyrene. Prøvene av de rømte laksene og av referanselaksene var tatt av forskjellige personer. Fettfinnen later følgelig ikke til å egne seg til formålet.

#### *Fettsyreprofil i skjell fra laks fra to anlegg i Hardangerfjorden.*

Det ble tatt prøver av 20 - 23 laks fra hver av stammene SB og AG fra anleggene til Lingalaks i Bergadalen og Rossholmen. Laksen var satt ut som jevngamle smolt samtidig i oktober/november 2006, i de to anleggene. De hadde gått i adskilte merder i de to anleggene, men ellers under identiske miljøbetingelser innen hvert anlegg frem til skjellprøvene ble tatt 7. august 2007. Fôret hadde vært identisk i de to anleggene. Andre miljøbetingelser, som saltholdighet, temperatur, vann dybde, strøm, er forskjellig i de to anleggene, lokalisert ca. 40 km fra hverandre i Hardangerfjorden.

Når alle prøvene beregnes samlet er det ingen klar forskjell mellom dem. De fire kategoriene ble deretter beregnet parvis. Med unntak av 6 laks, som faller inn i en annen kategori enn sin egen, er det skille mellom kategoriene, Figurene 4 a-d.

Fettsyreprofilen i skjellene later til å være påvirket av både genetiske faktorer, idet laks fra stammene SB og AG har forskjellig fettsyreprofil innen hvert av de to anleggene, og av miljøfaktorer, idet laks fra samme stamme har forskjellig fettsyreprofil mellom de to anleggene.

Det ble tatt nye skjellprøver av laks fra AG-stammen fra Rossholmen to og en halv måned senere. Laksen var i mellomtiden flyttet noen kilometer lengre innover i Hardangerfjorden. Fettsyresammensetningen i skjellene var da klart forskjellig. Dersom disse prøvene hadde vært rømte laks innfanget 2 ½ måned etter rømming kunne de altså ikke uten videre ha blitt sport tilbake til utgangspunktet. Imidlertid var disse "rømte" laksene enda mer forskjellige fra SB-stammen i anlegget på Rossholmen og også fra AG-stammen i Bergadalen, Figurene 5a, b. Så om det bare hadde vært disse to merdene som var alternativt opphav til rømmingen, ville identifikasjonen likevel være klar.

Fordelen med å benytte skjell til denne typen analyser er at prøvene kan tas uten å skade fisken.

#### *Forandring i fettsyreprofilen i skjell over tid*

Dette forsøket ble utført på to grupper av like gamle laks, +1 år, med samme opphav, AG-stammen. Forskjellen mellom gruppene skyldes tidspunkt for utsetting i sjøvann, den ene i oktober 2006, da de var smolt, og den andre i juni 2007. Prøvere av skjell ble tatt fire ganger i løpet av 19 dager mellom 7. og 26. november, 2007. De to gruppene hadde svært forskjellig fettsyreprofil i skjellene, Figur 6.

Fettsyreprofilen i skjellene hos de minste laksene hadde endret seg i løpet av 19 dager, minst i laks som var fôret i løpet av denne tiden, og mest i laks som var sultet, Figur 7.

For gruppen av store laks forandret fettsyreprofilen i skjellene seg også i løpet av de 19 dagene. De 20 fettsyrene som ble analysert forandret seg imidlertid i forskjellig grad, og da formålet med undersøkelsen var å finne markører som kan benyttes til sporing av rømt laks, ble de 10 fettsyrene som forandret seg minst brukt til videre beregninger. For å maksimere eventuell forskjeller ble de flervariable beregningene utført ved hjelp av PLS.

En liten, men ikke signifikant, endring hadde skjedd etter 5 dager hos laksen som var sultet, Figur 8a. Forskjellene økte, uten å bli signifikant, via 12 til 19 dager, Figurene 8 b, c. Fettsyreprofilen i skjellene hos laksen som var fôret i 19 dager hadde også forandret seg noe, ikke signifikant og ikke så mye som hos laksene som hadde sultet i 19 dager, Figur 8 d.

#### **Konklusjon**

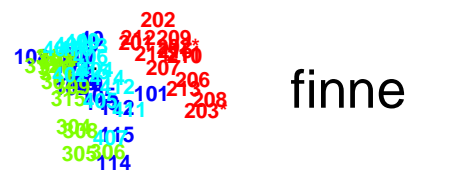
Uavhengig om det brukes vev fra hjertet, fettfinne, innvollsfett eller skjell kan fettsyreprofilen benyttes til å se forskjell på laks, både fra forskjellige stammer, men også innen samme stamme fra forskjellige anlegg, dvs forskjellig miljø. Forskjellene er ikke ensidig fôrbetinget, forskjeller i miljø, som saltholdighet, temperatur, lysforhold, dybde, fisketetthet, etc., vil også påvirke fettsyreprofilen, uten at vi ennå har kvantifisert virkningen av de forskjellige faktorene.

Fettsyreprofilen forandres seg også noe over tid. Dette må skyldes faktorer som er nevnt ovenfor. Foreløpig er dette bare undersøkt i skjell. Med den klare forskjell vi har påvist mellom laks fra forskjellige anlegg, men fra samme stamme, med samme alder, og med samme fôr, vites det ikke om forandringen over tid av fettsyreprofilen i skjellene er større enn forskjellen mellom anleggene og således kan vanskeliggjøre sporing av rømt laks med denne metoden.

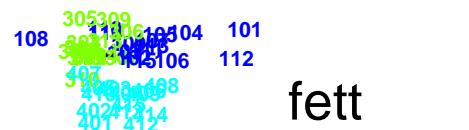
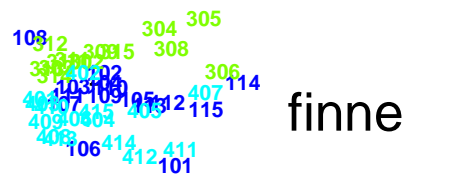
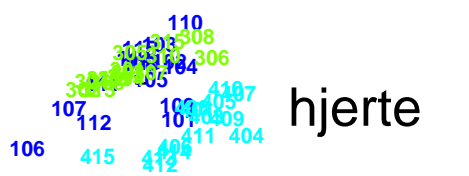
#### **Referanser**

- Berland, B., Bristow, G.A. and Grahl-Nielsen, O. 1990. Chemotaxonomy of Gyrocotyle (Platyhelminthes: *Cercomeria*) species, parasites of chimaerid fish (Holocephali), by chemometry of their fatty acids. *Mar. Biol.* **105**, 185-189
- Grahl-Nielsen, O. and Ulvund, K.A. 1990. Distinguishing populations of herring by chemometry of fatty acids. *Am. Fish. Soc. Symp.* **7**, 566-571.
- Grahl-Nielsen, O. and Mjaavatten, O. 1992. Discrimination of striped bass stocks by chemometry of the fatty acid profile in heart tissue. *Trans. Am. Fish. Soc.* **121**, 307-314.

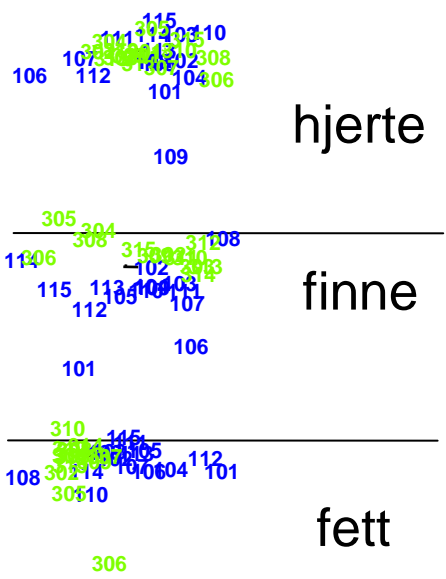
- Grahl-Nielsen, O., Mjaavatten, O. and Tvedt, E. 1993. Distinguishing between populations of the harp seal *Pagophilus groenlandicus* (Erxleben 1777), by chemometry of the fatty acid profile in selected tissues. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **50**, 1400-1404.
- Cooney, J.J., Doolittle, M.M., Grahl-Nielsen, O., Haaland, I.M. and Kirk Jr. P.W. 1993. Fatty acids in marine fungi. *J. Industrial Microbiology* **12**, 373-378.
- Joensen, H., Steingrund, P., Fjallstein, I. and Grahl-Nielsen, O. 2000. Discrimination between two reared stocks of cod (*Gadus morhua*) from Faroe Islands by chemometry of the fatty acid composition in the heart tissue. *Mar. Biol.* **136**, 573-580
- Joensen, H. and Grahl-Nielsen, O. 2000. Discrimination of *Sebastes viviparus*, *S. marinus* and *S. mentella* from Faroe Islands by chemometry of the fatty acid profile in heart and gill tissues and in the skull oil. *Comp. Biochem. Physiol. B.* **126**, 69-79.
- Joensen, H. and Grahl-Nielsen, O. 2001. The redfish species *Sebastes viviparus*, *Sebastes marinus* and *Sebastes mentella* have different composition of their tissue fatty acids. *Comp. Biochem. Physiol. B.* **129**, 73-85.
- Joensen, H. and Grahl-Nielsen, O. 2004. Stock structure of *Sebastes mentella* in the North Atlantic revealed by chemometry of the fatty acid profile in heart tissue. *ICES Journal of Marine Science.* **61**, 113-126
- Grahl-Nielsen O 2004. Fatty acid profiles as natural marks for stock identification. Chapter in: Cadrin SX, Friedland KD, Waldman JR (eds) *Stock identification methods* Academic Press, NY pp 239-261.
- Kwetegyeka J, Mpango G, Grahl-Nielsen O 2006. Fatty acid composition of muscle and heart tissue of Nile perch, *Lates niloticus*, and Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, from different populations in Lakes Victoria and Kioga, Uganda *African J Aquat Sci* **31**, 297-304.



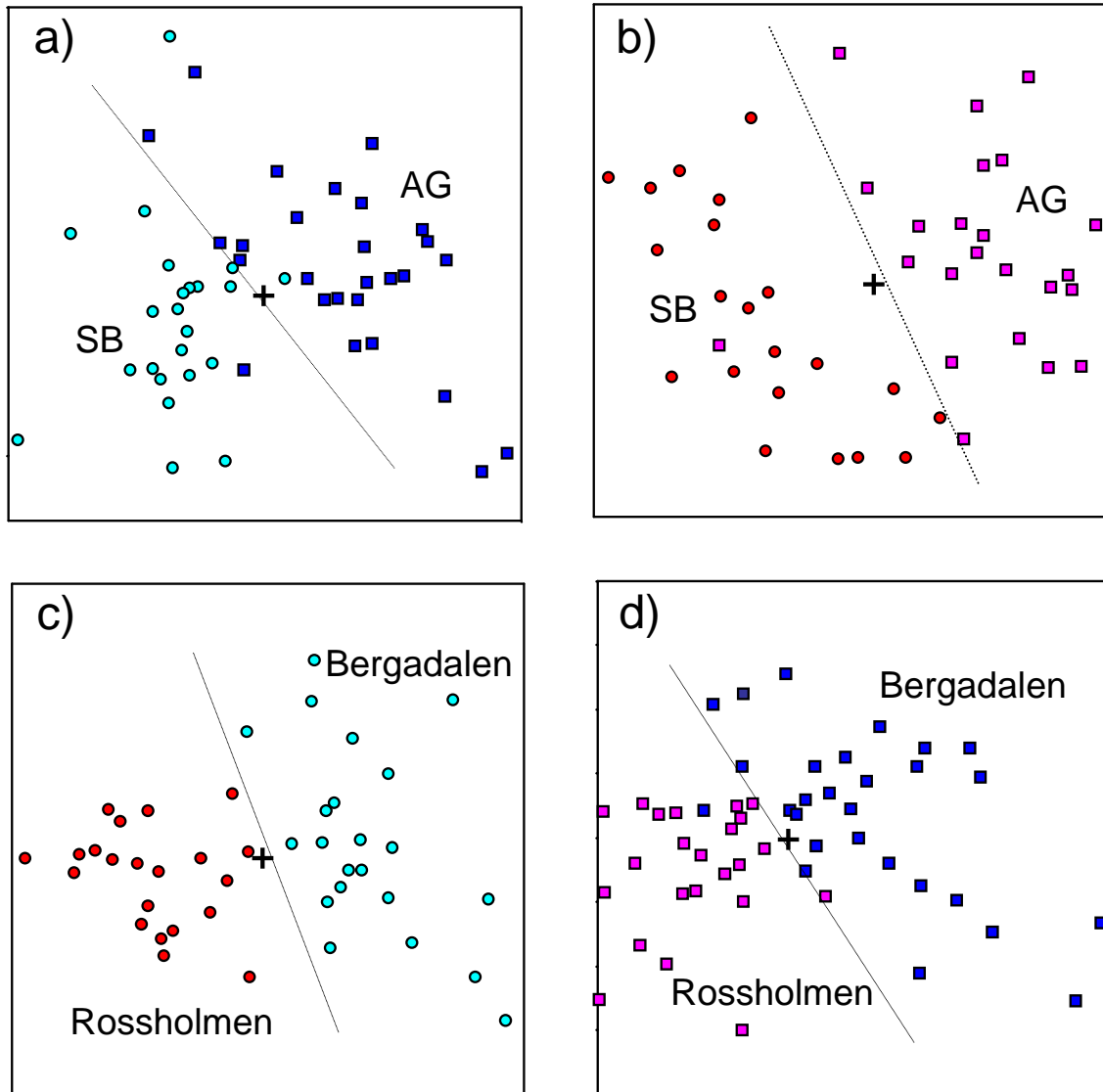
Figur 1. Laks fra fire anlegg be- regnet samlet. Vevsprøver fra hjerte, fettfinne og innvollsfett er behandlet separat. Hvert tall re- presenterer én laks, samme tall for samme laks for alle tre vev.



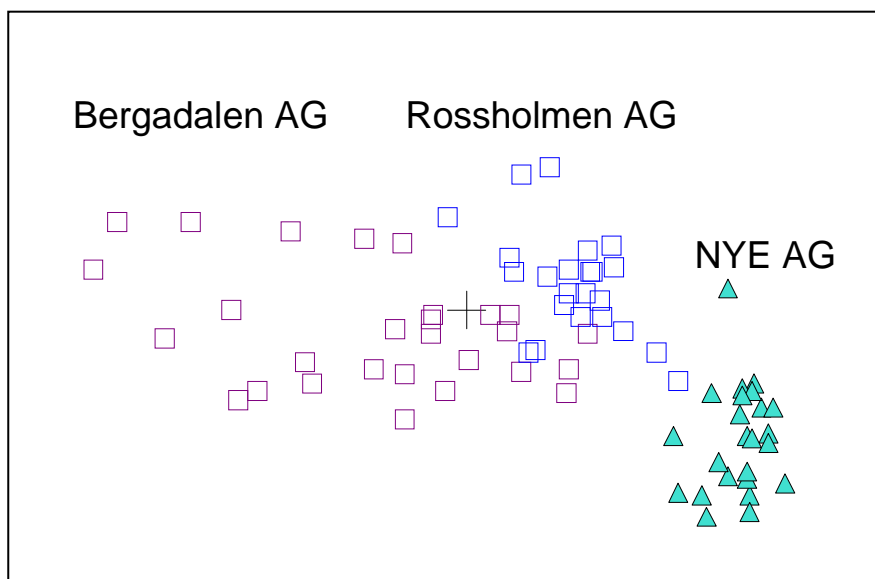
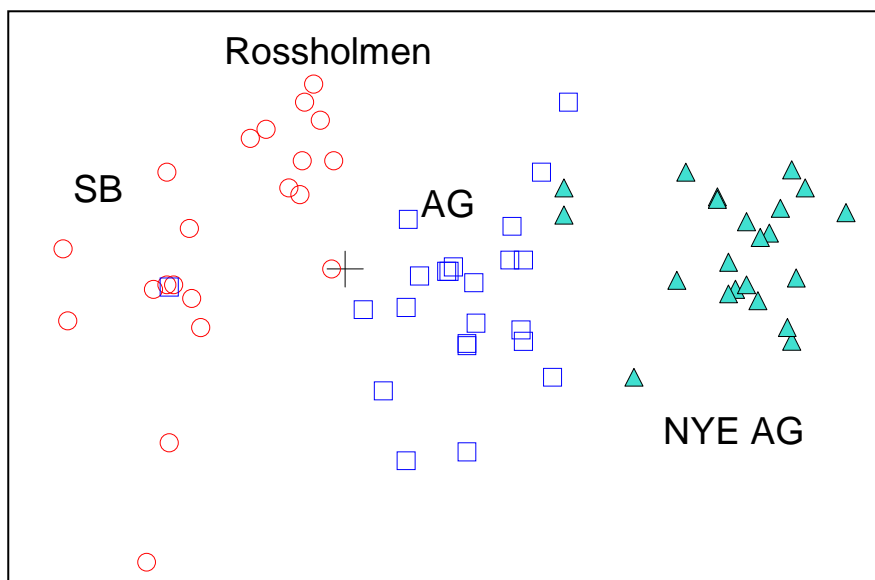
Figur 2. Laks fra tre anlegg be- regnet samlet.



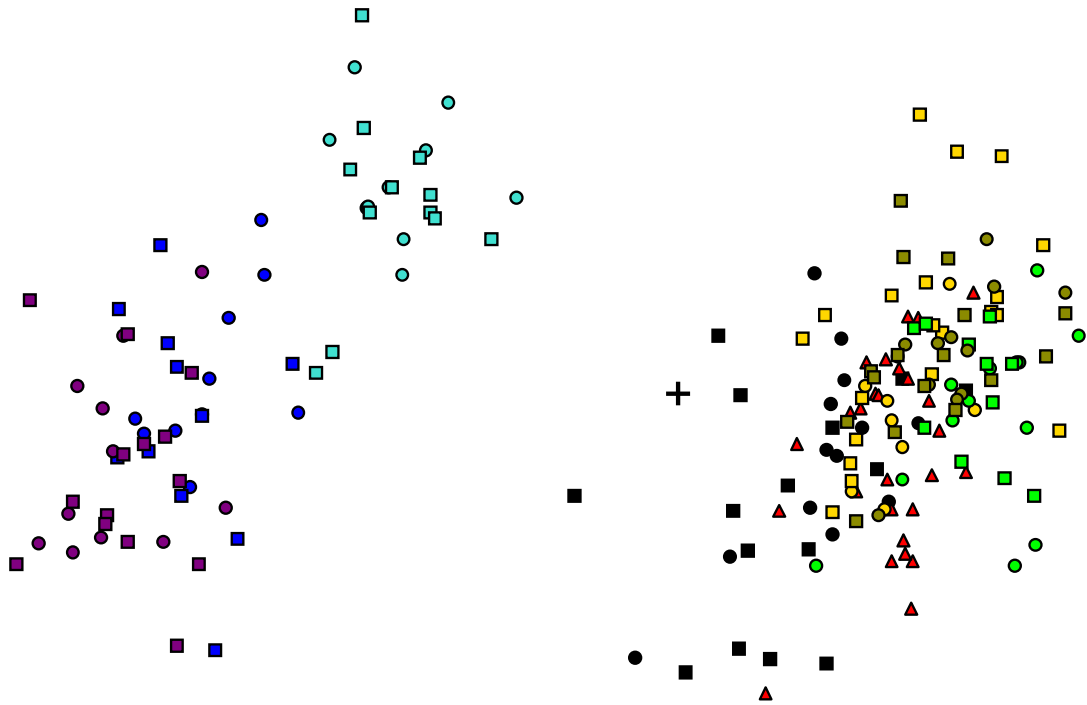
Figur 3. Laks fra to anlegg be- regnet samlet.



Figur 4. Fettsyreprofil i skjell fra laks fra a) SB- og AG-stammene i anlegget i Bergadalen, b) SB- og AG-stammene i anlegget i Rossholmen, c) SB-stammen fra anleggene i Bergadalen og Rossholmen, og d) AG-stammen i anleggene i Bergadalen og Rossholmen. Hvert symbol representerer en laks.



Figur 5. Fettsyreprofil i skjell fra laks fra, øverst, SB- og AG-stammene innsamlet 8. august 2007 og AG-stammen inn-samlet 22. oktober fra anlegget i Rossholmen, og nederst fra AG-stammen samlet inn 8. august fra anleggene i Bergadalen og Rossholmen og AG-stammen innsamlet 22.oktober fra anlegget i Rossholmen. Hvert symbol representerer en laks.



Figur 6. Fettsyreprofil i skjell fra laks fra Matre basert på 20 fettsyrer.

små laks dag 0 – blå

små laks dag 19 sultet – turkis

små laks dag 19 fôret – fiolett

stor laks dag 0 – svart

stor laks dag 5 sultet – rød

stor laks dag 12 sultet – gul

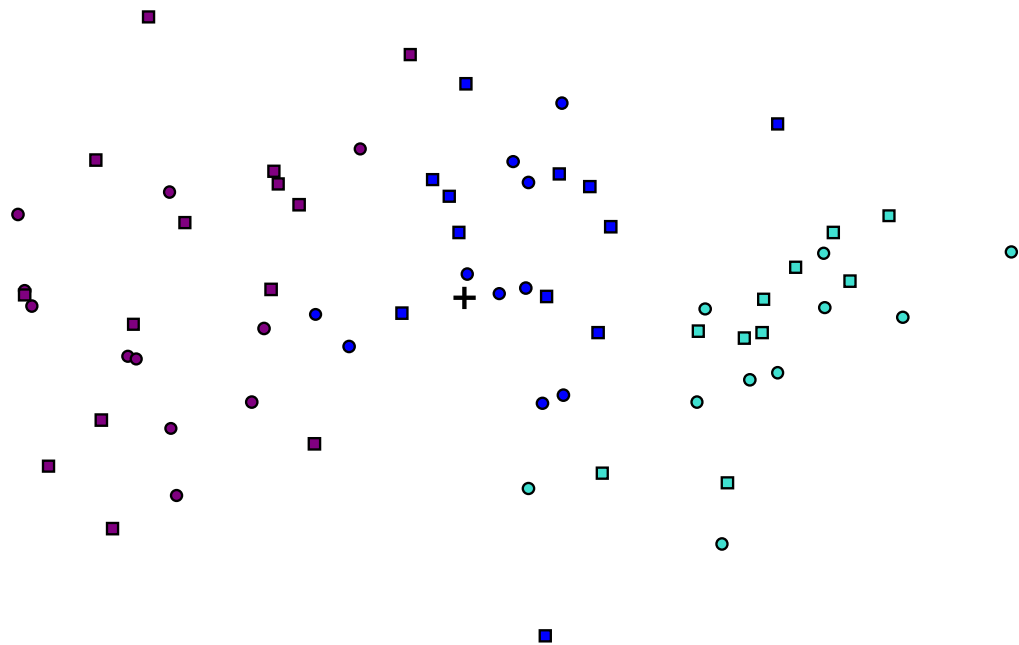
stor laks dag 19 sultet – grønn

stor laks dag 19 fôret - grå

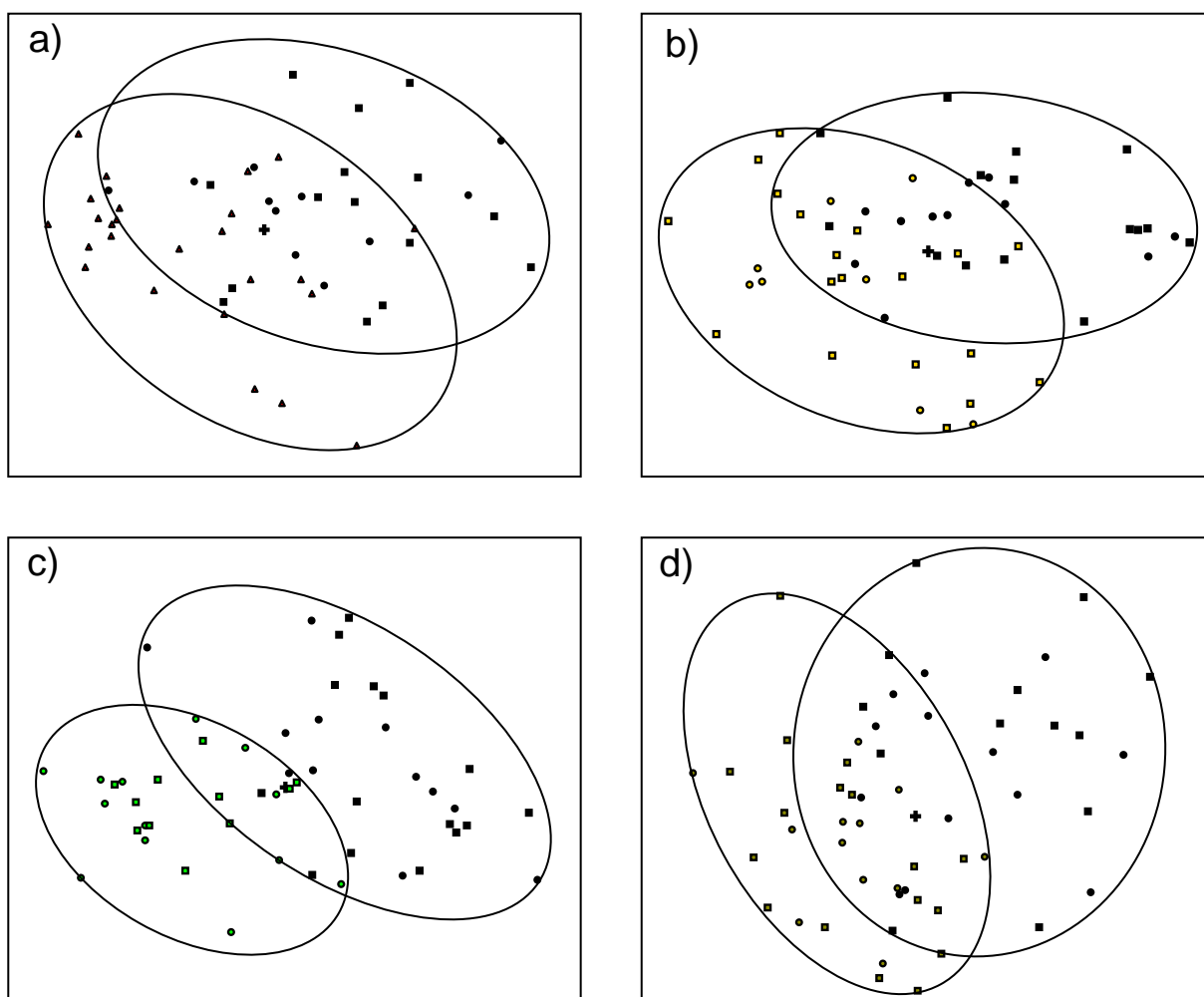
sirkler – hunner, firkanter – hanner, trekanter – kjønn ikke bestemt

hvert symbol representerer en laks





Figur 7. Fettsyreprofil i skjell fra små laks fra Matre basert på 20 fettsyrer  
 dag 0 – blå,  
 dag 19 sultet – turkis  
 dag 19 fôret – fiolett  
 hvert symbol representerer en laks



Figur 8. Fettsyreprofil i skjell fra stor laks fra Matre, basert på 10 fettsyrer

- a) dag 0 – svart og dag 5 sultet – rød
  - b) dag 0 – svart og dag 12 sultet – gul
  - c) dag 0 – svart og dag 19 sultet – grønn
  - d) dag 0 – svart og dag 19 fôret – grå
- hvert symbol representerer en laks

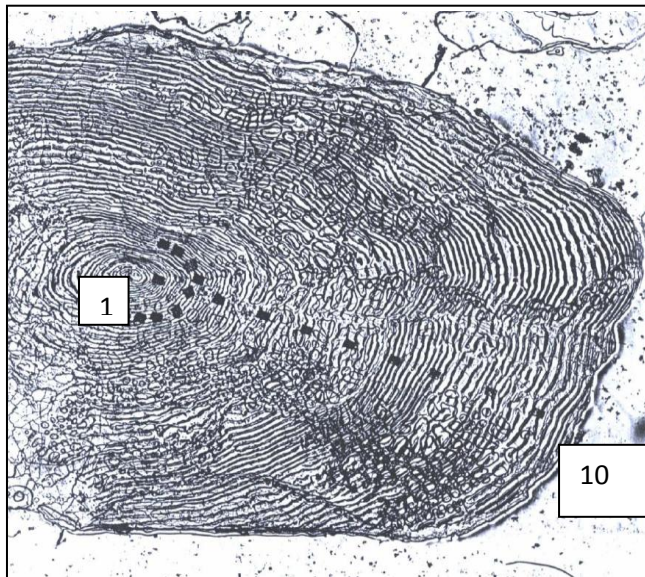
# Identifisering og separering av grupper av oppdrettsfisk ved bruk av sporelementer (WP-4)

Vidar Moen, Veterinærinstituttet

Belinda Flem, NGU

## Innledning

Forekomst og kvantitativ sammensetning av sporelementer i vann varierer mellom lokaliteter (innsjøer, bekker, større elver, vassdrag, fjord-avsnitt, kyststrekninger og ulike havområder) (Campana et al. 1994; 2000; Wells et al. 2000). En rekke internasjonale studier viser at sammensetningen av sporelementer i kalsiumrike strukturer hos akvatiske organismer i stor grad avspeiler vannets geokjemiske sammensetning (Takagi et al. 1989; Bereiter-Hahn and Zylberger 1993). Skjell og otolitter hos fisk er kalsiumrike strukturer som vokser i takt med fisken og står ikke i osmotisk likevekt med andre organer i kroppen. Egenskapene gjør dem egnet til bruk ved sporing og identifikasjon. Andre undersøkelser har vist god oppløsning ved sammenligning av elementprofiler (Sohn et al 2005; Coghlan et al 2007). Egne studier basert på bruk av LA-ICP-MS for å skille voksen laks fra ulike lokaliteter gav god oppløsning (Flem et al 2005). Prøver fra pre-smolt delen av skjell ble her nyttet for å skille individer tilhørende ulike bestander. Bruk av elementanalyser muliggjør sporing av fisk tilbake til det habitatet den tidligere har oppholdt seg i. Otolitter og skjell sees derfor ofte på som ferdsskriver hvor den løpende kvantitative elementsammensetningen i fiskens miljø inkorporeres fortløpende i strukturenes påvekst-soner.



Figur 1. Skjell fra en 1-sjøvinter laks av Rana stamme utsatt som smolt våren 2005 og gjenfanget i Reinforsen høsten 2006. De svarte kvadratiske merkene er kvadratiske rastere etter prøveuttak ved bruk av LA-ICP-MS (Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry). De sirkulære ringene som starter i sentrum av skjellet er strukturer kalt skleritter. Det er tatt ut prøver lang en skleritt og langs et transekt fra sentrum og ut til kanten av skjellet (prøve nr 20 – 29). Avhengig av stamme synes skleritter å dannes hver 20-40 dag. Temporal variasjon i skjellets tilvekst gir variasjon i skleritt-bredde. På figuren sees vekstomslaget idet fisken vandrer fra ferskvann til sjø. Varierende skleritt-bredde i sjøfasen indikerer varierende somatisk tilvekst.

Bakgrunnen for vårt engasjement i TRACES var ønsket om å gjennomføre forsøk med testing av metodikk for sporing av rømt oppdrettslaks basert på elementprofil i skjell og otolitt. Den kvalitative og kvantitative sammensetningen av sporelementer er unik og karakteristisk for en ferskvannslokalitet. Skjell og otolitter vokser gjennom hele fiskens liv. Vårt mål var å dokumentere og kvantifisere naturlig variasjon i definerte avsnitt og skjell- og otolittstrukturer

ved laserablasjons ICPMS i kjent materiale. Den lokale kjemiske cocktailen i ferskvannsføremålet vil fortløpende innkorporeres i fiskens kalsiumsstrukturer og slik være en unik signatur som er målbar og sporbar.

Den første perioden etter klekking holdes fisken i ferskvann i ulike settefiskanlegg. Når fisken smoltifiseres settes den ut i sjømerder i fjorder og nære kyststrøk for oppforing. Imidlertid rømmer fisk fra installasjonene. Det skjer på ulike utviklingsstadier og av ulike årsaker. Vi ønsker å teste om bruk av LA-ICP-MS kan være en metode som egner seg til bruk i forbindelse med utvikling av en beredskapsmetodikk til bruk ved identifikasjon av rømt fisk til det sjøanlegget fisken rømte fra eller til det settefiskanlegget fisken kom fra. Vår målsetning er å kunne koble enkeltfisk til den lokale sjømerd eller det settefiskanlegg ved sammenligning av geokjemisk profil i skjell. Skjellene det sammenlignes mot vil være skjellprøver hentet ut fra den enkelte kohort mens den sto i klekkeri og senere mens den sto i sjømerd. Dette materialet ønskes sammenholdt med skjellprøvene fra rømt fisk med ukjent opprinnelse.

De gjennomførte undersøkelsene er første del av aktiviteten i arbeidspakke 4 (WP-4) i det NFR-finansierte forskningsprosjektet TRACES (172628/S40). Den første delen (fase 1) omfatter kvantifisering av den naturlige variasjonen mht geokjemisk profil innen og mellom skjell fra et og samme individ og mellom individer tilhørende samme kohort. Kvantitative analyser av element-sammensetning i skjell fra 1-sjøvinterlaks gjennomføres med bruk av LA-ICP-MS (Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry). Metodikken er tidligere beskrevet i Flem et al (2005). Fisken ble produsert ved genbanken for vill laks på Bjerka i Nordland. Her ble den fargemerket på rognstadiet og senere satt ut i Ranelva som smolt våren 2005. Fisken ble gjenfanget i vassdraget på ettersommeren 2006.

Sentrale spørsmål i fase 1 har vært: 1) vil elementanalyser ved bruk av LA-ICP-MS på fiskeskjell gi stabile resultater? 2) vil metoden gi tilstrekkelig oppløselighet og hvor stor er denne oppløseligheten? 3) vil gjentatt prøvetak fra presmoltdelen av skjellet gi de samme resultatene også etter at fisken er satt i sjø?

Undersøkelsene omfatter dokumentasjon av den naturlige variasjonen av sporelementer i skjell innen og mellom individ innen en kohort, og baserer seg på kvantitative analyser av 16 grunnelementer: Li – Litium; Mg – Magnesium; Ca- Kalsium; Cr – Krom; Mn – Mangan; Fe – Jern; Zn – Sink; Sr – Strontium; Ba – Barium; La – Lanthan; Ce – Cerium; Pr – Praseodym; Nd – Neodym; Sm – Samarium; Pb – Bly; U – Uran.

A-1: Dokumentere variasjon i elementsammensetning langs skleritter innenfor smoltsonen av ett skjell. Det ble foretatt en sammenligning av tilhørighet til enkeltprøver langs skleritter og hvor prøveuttakets presisjon i forhold til målområde er klassifisert mht kvalitet fra 1-4 med avtagende likhet fra 1 til 4 mht plassering langs to-tre skleritter i smoltdelen av et skjell. Det ble her foretatt sammenligning av 7 rastre/områder langs en-to skleritter i ett skjell. Undersøkelsen foretatt for 8 individer med til sammen 63 rastere /innsamlingspunkter. Ved bruk av diskriminantanalyser ble det foretatt en kvantifisering av variasjon og bestemmelse av gruppetilhørighet for klassifiserte prøveuttak. Eksemplet nedenfor (tabell 2) viser resultater for to av individene: 193-1 og 566-2.

Tabell 2. Diskriminant funksjonsanalyse for prøvetak langs en skleritt gitt klassifisering avhengig av prøvens plassering i forhold til ønsket plassering. for individ 193-1 og 566-2. Tabellene viser egenvektorer og deres forklaring av sammenhenger (funksjon 1 og 2 for individ nr.193 forklarer 72% av sammenhengen, mens det samme for individ nr. 566 er 100%. Lave verdier av Wilks Lamda indikerer at det er signifikante forskjell mellom gruppene.

193-

Eigenvalues

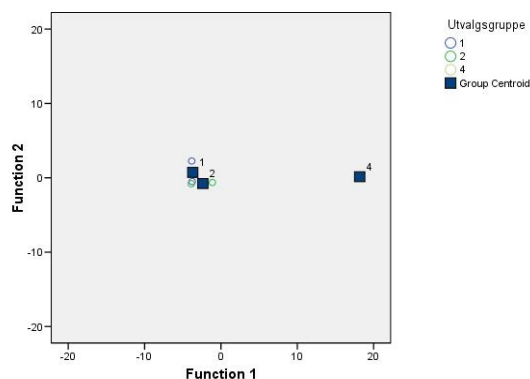
Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	23,233 <sup>a</sup>	46,9	46,9	,979
2	12,458 <sup>a</sup>	25,1	72,0	,962
3	8,083 <sup>a</sup>	16,3	88,3	,943
4	2,640 <sup>a</sup>	5,3	93,6	,852
5	1,706 <sup>a</sup>	3,4	97,1	,794
6	,990 <sup>a</sup>	2,0	99,0	,705
7	,472 <sup>a</sup>	1,0	100,0	,566

a. First 7 canonical discriminant functions were used in the analysis.

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1 through 7	,000	232,798	77	,000
2 through 7	,000	167,450	60	,000
3 through 7	,004	114,159	45	,000
4 through 7	,035	68,927	32	,000
5 through 7	,126	42,442	21	,004
6 through 7	,341	22,033	12	,037
7	,679	7,926	5	,160

Canonical Discriminant Functions



566-

Eigenvalues

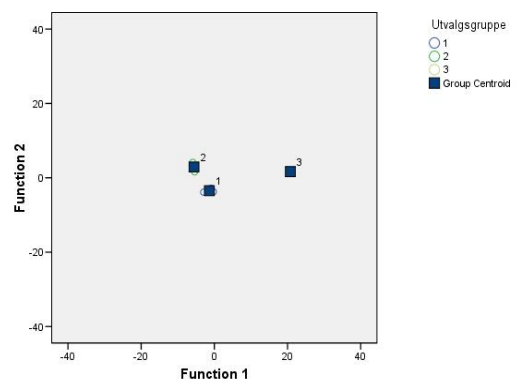
Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	132,556 <sup>a</sup>	89,2	89,2	,996
2	16,023 <sup>a</sup>	10,8	100,0	,970

a. First 2 canonical discriminant functions were used in the analysis.

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1 through 2	,000	27,052	4	,000
2	,059	9,921	1	,002

Canonical Discriminant Functions



Forskjellene mellom prøvetak gitt ulik klassifisering gav en indikasjon på metodens oppløselighet. Avvik i størrelsesorden en-to skleritter gav signifikante kvantitative forskjeller (tabell 2).

En test for likheter mellom prøver gitt klassifisering 1 fra åtte ulike individer gav signifikante forskjeller mellom individer (tabell 3).

Tabell 3. Test for likhet mellom prøver gitt klassifisering 1 og hentet fra åtte ulike individer. Resultatene viste at de fem første prinsipale komponentene beskrev 97% av variansen. Av de 31 prøvene ble 100% riktig klassifisert og fordelt på 8 grupper (skjell fra 8 ulike individ).

Eigenvalues					Wilks' Lambda				
Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation	Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1	24,555 <sup>a</sup>	45,4	45,4	,980	1 through 7	,000	236,702	77	,000
2	16,833 <sup>a</sup>	31,1	76,6	,972	2 through 7	,000	170,265	60	,000
3	6,560 <sup>a</sup>	12,1	88,7	,932	3 through 7	,004	111,204	45	,000
4	3,290 <sup>a</sup>	6,1	94,8	,876	4 through 7	,033	69,736	32	,000
5	1,198 <sup>a</sup>	2,2	97,0	,738	5 through 7	,143	39,881	21	,008
6	1,114 <sup>a</sup>	2,1	99,1	,726	6 through 7	,314	23,740	12	,022
7	,506 <sup>a</sup>	,9	100,0	,580	7	,664	8,396	5	,136

a. First 7 canonical discriminant functions were used in the analysis.

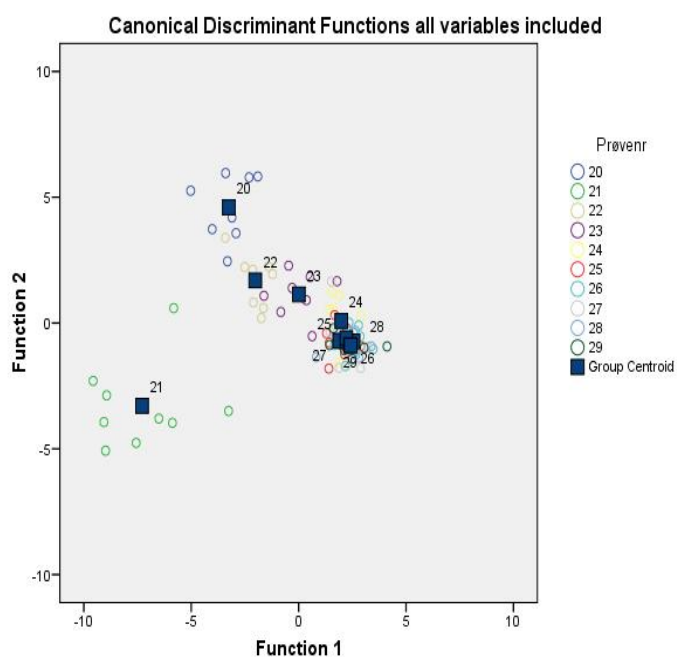
Original	Count	Fisknr	Predicted Group Membership							Total	
			193	509	558	566	596	801	830		877
	193	193	3	0	0	0	0	0	0	0	3
	509	509	0	4	0	0	0	0	0	0	4
	558	558	0	0	6	0	0	0	0	0	6
	566	566	0	0	0	3	0	0	0	0	3
	596	596	0	0	0	0	3	0	0	0	3
	801	801	0	0	0	0	0	3	0	0	3
	830	830	0	0	0	0	0	0	6	0	6
	877	877	0	0	0	0	0	0	0	3	3
%	193	193	100,0	,0	,0	,0	,0	,0	,0	,0	100,0
	509	509	,0	100,0	,0	,0	,0	,0	,0	,0	100,0
	558	558	,0	,0	100,0	,0	,0	,0	,0	,0	100,0
	566	566	,0	,0	,0	100,0	,0	,0	,0	,0	100,0
	596	596	,0	,0	,0	,0	100,0	,0	,0	,0	100,0
	801	801	,0	,0	,0	,0	,0	100,0	,0	,0	100,0
	830	830	,0	,0	,0	,0	,0	,0	100,0	,0	100,0
	877	877	,0	,0	,0	,0	,0	,0	,0	100,0	100,0

a. 100,0% of original grouped cases correctly classified.

A-2: Dokumentere variasjon i elementsammensetning mellom skleritter langs et transekt fra sentrum og ut til kanten av et skjell (se fig. 1 og fig. 4). Fra hvert skjell ble det tatt ti prøver fordelt langs et transekt, prøvenr. 20-29 fra sentrum og ut til skjellkanten, hvor den enkelte prøves plassering ble bestemt ut fra faste brøker av lengden fra sentrum og ut til kanten av hvert skjell. Den samme brøken ble nyttet på hvert av de undersøkte skjellene.

For det enkelte skjellet fant vi de største forskjellene mellom prøver fra ferskvanns- og brakkvannsdelen av skjellet (prøver nr 20-23), mens forskjellene mellom prøvene fra sjø/hav delen var minst (prøver nr 24-29). For de sistnevnte fant vi ingen signifikant forskjell mellom individer.

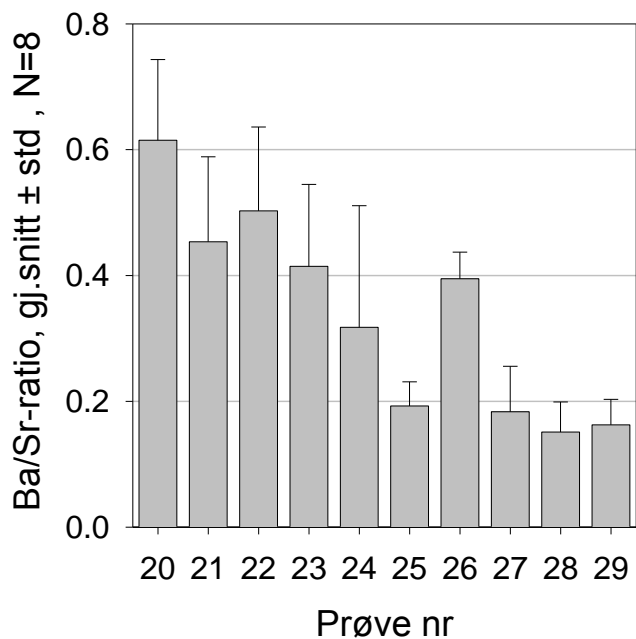
Tabell 4. Klassifikasjonsresultat ved diskriminant analyser av elementprofil i skjell fra sentrum og ut til kanten av skjellet (se fig 1). Figuren viser PC1 og PC2 for de samme dataene.



Classification Results<sup>a</sup>

Original	Count	Prøvenr	Predicted Group Membership									Total		
			20	21	22	23	24	25	26	27	28		29	
20	7		7	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	8
21	0		0	8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	9
22	0		0	0	7	1	0	0	0	0	0	0	0	8
23	0		0	0	1	6	0	1	0	0	0	0	0	8
24	0		0	0	0	0	0	4	0	1	2	1	0	8
25	0		0	0	0	0	0	5	0	2	0	1	0	8
26	0		0	0	0	0	0	1	4	1	2	0	0	8
27	0		0	0	0	0	0	1	0	5	2	0	0	8
28	0		0	0	0	0	0	0	0	2	4	2	0	8
29	0		0	0	0	0	0	0	0	0	3	5	0	8
%														
20			87,5	,0	12,5	,0	,0	,0	,0	,0	,0	,0	,0	100,0
21			,0	88,9	11,1	,0	,0	,0	,0	,0	,0	,0	,0	100,0
22			,0	,0	87,5	12,5	,0	,0	,0	,0	,0	,0	,0	100,0
23			,0	,0	12,5	75,0	,0	12,5	,0	,0	,0	,0	,0	100,0
24			,0	,0	,0	,0	50,0	,0	12,5	25,0	12,5	,0	,0	100,0
25			,0	,0	,0	,0	,0	62,5	,0	25,0	,0	12,5	,0	100,0
26			,0	,0	,0	,0	,0	12,5	50,0	12,5	25,0	,0	,0	100,0
27			,0	,0	,0	,0	,0	12,5	,0	62,5	25,0	,0	,0	100,0
28			,0	,0	,0	,0	,0	,0	,0	25,0	50,0	25,0	,0	100,0
29			,0	,0	,0	,0	,0	,0	,0	,0	37,5	62,5	,0	100,0

a. 67,9% of original grouped cases correctly classified.



Figur 5. Ba/Sr-ratioen for prøver fra sentrum og ut til kanten av skjell.

A-3: Dokumentere variasjon i elementsammensetning mellom skjell fra ett og samme individ. Undersøkelsen basert på tre prøvetak langs en skleritt med fast relativ avstand fra sentrum og ut til kanten av skjellet (Diameter x 0,111). Det ble her ikke funnet signifikante forskjeller mellom prøver fra ulike skjell fra samme individ (univariat ANOVA-test).

Faglige utfordringer i Fase 1 har vært å kvantifisere variasjon, og dokumentere metodens oppløsning og foreta statistisk testing. En videre utvikling av det statistiske verktøy basert på multivariat klassifikasjon vil være et nyttig og nødvendig verktøy i det videre arbeidet.

Videre er det behov for å utarbeide metodikk for standardisering av prøveuttak i skjell. Det gjelder spesielt mht posisjonering og orientere seg på skjell ut fra skleritter eller ut fra lengdemål fra et fast punkt på skjellet. Posisjonering ut fra sklerittmønster vil kreve testing med bruk av system for karaktergjenkjenning basert på bilde og struktur av overflater.

I 2008/2009 ønsker vi å gjennomføre en storskala test av metodikken basert på spring av laks fra Hardangerfjord-regionen basert på opparbeidede læreeksempel fra det enkelte lokale anlegg og den enkelte batch av fisk. På det grunnlag gjennomføres testing for match mellom læreeksempel av skjellprøve fra settefisk og skjellprøver fra voksenfisk i sjømerder i Hardangerfjord-regionen. Prøvene sammenholdes med "ukjente" prøver av voksen fisk i denne samme regionen.



## Referanser

- Bereiter-Hanh, J. And Zylberberg, L. 1993. Regeneration of teleost fish scales. *Comparative Biochemical Physiology* 105A: 625-641.
- Campana, S.E., Fowler, A.J., and Jones, C.M. 1994. Otolith elemental fingerprinting for stock identification of Atlantic cod (*Gadus morhua*) using laser ablation ICPMS. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 51: 1942-1950.
- Campana, S.E., Chouinard, G.A., Hanson, J.M., Fréchet, A. And Bratty, J. 2000. Otolith elemental fingerprinting as biological tracers of fish stocks. *Fisheries Research* 46: 343-357.
- Coghlan, S.M., Lyerly, M. S., Bly, T. R., Williams, J. S. and Bowman, D. 2007. Otolith chemistry discriminates among hatchery-reared and tributary-spawned salmonines in a tailwater system. *North Am. J. of Fisheries Mng.* V. 27, 2. 531-541.
- Flem, B., Moen, V., & Grimstvedt, A. 2005. Trace Element Analysis of Scales from Four Populations of Norwegian Atlantic Salmon (*Salmo Salar* L.) for Stock Identification Using Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Applied Spectroscopy*, Vol 59,Nr 2. p 43-49.
- Sohn, D., Kang, S. and Kim, S. 2005. Stock identification of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) using trace elements in otoliths. *J. of Oceanography.* v. 61, 2, 305-312.
- Takagi, Y., Hirano, T. And Yamada, J. 1989. Scale regeneration of tilapia (*Oreochromis niloticus*) under various ambient and dietary calcium concentrations. *Comperative Biochemical Physiology* 92A: 605-608.
- Wells, B.K., Thorrold, S.R. and Jones, C.M. 2000. Geographic variation in trace element composition of juvenile weakfish scales. *Trans. Am. Fish. Soc.* 129: 889-900.

# **Gytefisktelinger i 18 vassdrag i Hardangerfjordsystemet; bestandsstatus for villfisk og innslag av rømt oppdrettslaks (WP-5)**

*Helge Skoglund, Bjørn T. Barlaup, Gunnar B. Lehmann, Tore Wiers,*

*Sven Erik Gabrielsen og Ole Sandven*

*Laboratorium for Ferskvannøkologi og Innlandsfiske (LFI),*

*Unifob (Universitetsforskning Bergen)*

---

## **Sammendrag**

I løpet av perioden 2004-2007 gjennomførte LFI-Unifob dykkerregistreringer av gytefisk i til sammen 18 vassdrag tilknyttet fjordsystemet. Hensikten var å vurdere hvor godt egnet metoden var for å overvåke bestandene i vassdragene, kartlegge bestandssituasjonen for villaks og sjøaure, og å kartlegge innslaget av rømt oppdrettslaks i gytebestandene.

Det ble registrert gytefisk av laks i alle vassdragene i de årene de ble undersøkt, med unntak av Austrepolleva. Etneelva skiller seg klart ut ved det høyeste antallet laks, både i absolutte antall og i antall fisk per arealenhet. I mange av de øvrige vassdragene var antall gytefisk av villaks svært lavt, i de fleste tilfellene bestående av <50 gytelaks, og i flere tilfeller <10 gytelaks. Sammenlignet med fangststatistikk bakover i tid tyder resultatene på at gytebestanden av laks er betydelig redusert i mange av vassdragene. I tillegg var de fleste bestanden rundt eller under det antatte nivået for gytebestandsmålet til tross for at laksen er fredet, og trolig er gytebestandene så lave at det i mange av elvene er begrensende for ungfiskproduksjonen. Unntaket er Etneelva som synes å ha en solid gytebestand over gytebestandsmålet også etter beskatning i form av sportsfiske.

Totalt utgjorde rømt oppdrettslaks 9-27 % av det totale antallet observasjoner av laks i de fire årene, og innslaget varierte mellom vassdrag og mellom år. I løpet av prosjektperioden ble det med ett unntak observert rømt oppdrettslaks i alle de undersøkte vassdragene, og i mange av vassdragene var innslaget av rømt oppdrettslaks betydelige. Det ble observert flest oppdrettslaks i de store vassdragene, men oppdrettslaksen kunne dominere antallsmessig over villaksen i flere av de mindre vassdragene. Det ble også observert flere oppdrettslaks i vassdragene i midtre og ytre deler av fjordssystemet. Det ble observert både nyrømt og blanke laks, og oppdrettslaks som hadde utviklet gytedrakt og som trolig hadde gått i sjøen en stund før de gikk opp i elvene. Rømt oppdrettslaks identifiseres hovedsaklig ut i fra ulike morfologiske kjennetegn som kroppsform, pigmentering, slitasje på finner og spord etc. Det vil imidlertid ikke alltid være mulig å identifisere oppdrettslaks ut i fra morfologiske kjennetegn, og i mange tilfeller vil derfor oppdrettslaks feilbestemmes som villaks. Dette vil føre til at det reelle innslaget av oppdrettslaks generelt vil være høyere enn hva som fremgår av gytefisktelingerne. Dette forholdet bidrar tilsvarende til en overestimering av antallet villaks og forsterker derfor inntrykket av at gytebestanden av villaks er betydelig redusert.

Sjøaure var generelt mer tallrike enn laksen, og det synes å være selvreproduserende bestander av sjøaure i alle de undersøkte vassdragene. Bestandssituasjonen var imidlertid sammensatt og varierte mye mellom vassdragene. I flere av vassdragene er det i dag

livskraftige bestander av sjøaure, men nivåene på bestandene synes mange steder å være betydelig redusert i forhold til tidligere. Flere av vassdragene hadde tidligere store bestander av sjøaure, som for eksempel Granvinsvassdraget som tidligere var regnet som ett av Vestlandets beste sjøaurevassdrag, og som i enkelte år hadde fangster på flere tusen fisk. I andre vassdrag, som i Hattebergsvassdraget og Øyreselva er bestandene av sjøaure marginale og gytebestandene består her av noen titalls fisk.

Til tross for enkelte begrensninger vurderes dykkerregistreringer av gytefisk som en godt egnet metode for både å følge utviklingen i bestanden av villaks og sjøaure, og for å følge utviklingen i omfanget av rømt oppdrettslaks i vassdragene i Hardangerfjordsystemet.

Samlet viser resultatene fra prosjektperioden at situasjonene for villaksbestandene i fjordsystemet er preget av fåtallige gytebestander med et høyt innslag av rømt oppdrettslaks. Situasjonen for villaksbestanden vurderes derfor som kritisk. Basert på tellingen av gytefisk er flere bestander så fåtallige at det ikke gytes nok egg til at potensialet for ungfiskproduksjon realiseres. Dette gjør bestanden svært sårbare for rømt oppdrettslaks og trusselfaktorer som medfører unormalt høy dødelighet i sjøfasen. Etneelva er det eneste vassdraget som har en livskraftig gytebestand, men det høye innslaget av rømt oppdrettslaks er også her bekymringsfullt. Når det gjelder sjøauren er bestandsstatus mer varierende men i flere av vassdragene er bestandene betydelig redusert. Undersøkelsene påpeker derfor sterkt behovet for tiltak som kan redusere kjente trusselfaktorer som angrep av lakselus på utvandrende smolt og innblanding av rømt oppdrettslaks i gytebestandene.

## **Oppsummering og konklusjon**

### *Gjennomføring og vurdering av metoden*

Erfaringene fra dykkerregistreringene av gytefisk fra 18 ulike vassdrag tilknyttet Hardangerfjorden, tilsier at metoden generelt sett er godt egnet for å kartlegge gytebestandene av laks og sjøaure. De fleste vassdragene har relativt begrensede lakseførende strekninger, og en eller flere erfarne dykkere kan greit få oversikt over hele elvens bredde. De største utfordringene med hensyn til gjennomføring er knyttet til vannførings- og siktforhold i vassdragene, ettersom en er avhengig av en periode med lav vannføring i løpet av gytetiden. I denne perioden har det de senere år ofte vært lange perioder med store nedbørmengder som fører til høy vannføring som umuliggjør tellinger. En forutsetning for å kunne gjennomføre telling i elvene har derfor vært at tre dykkerlag á to personer og assistenter, har vært klare til å rykke ut og gjennomføre telling på svært kort varsel når redusert nedbør og vannføring har gitt gunstige telleforhold.

Gytefisktellingene har i hovedsak vært gjennomført i oktober, men på grunn av høy vannføring- og/eller dårlige siktforhold er noen tellinger enkelte år gjennomført i løpet av november eller tidlig desember. Sjøauren gyter normalt i løpet av oktober mens laksen som regel gyter noen uker senere i løpet av november. Laksen forventes å være på plass i vassdraget når sjøauren gyter i oktober. Ved å gjennomføre gytefisktellingene i november, under gytetiden til laksen, vil imidlertid det meste av sjøauren være utgytt og en betydelig andel kan da ha forlatt vassdraget. For å få gode tall for gytebestanden av sjøaure bør derfor tellingen generelt ikke gjennomføres etter oktober, mens en for laksen normalt vil få gode tall ved gytefisktellingene både i oktober og november.

I brepåvirkete elver som Opo og Bondhuselven førte breslam til dårlig siktforhold og dette snevrer inn antall dager med egnede forhold for tellinger. Enkelte elver som Kinso og Opo er også så strie at vannføringen bør være svært lav under gytefisktellingsperiodene av sikkerhetsmessige årsaker. I disse elvene har det derfor ikke vært mulig å gjennomføre tellinger hvert år og det vurderes ikke som realistisk å få sammenhengende tidsserier med årlige tellinger i disse elvene.

Ved en normal gjennomføring av gytefisktellinger vil en få en god oversikt over gytebestandene. En opplagte feilkilder skal imidlertid påpekes. Selv om dykkerne i de fleste aktuelle vassdragene kan dekke hele elvens bredde, vil det allikevel sjelden være mulig å telle hele bestanden. Dette skyldes at noen fisk vil klare å unngå dykkerne ved å ligge skjult under store blokker etc. Gytefisktellingsperiodene vil derfor representere minimumsestimat. Andelen fisk som blir registrert vil være avhengig av vannføring og vassdragets utforming. Generelt vil andelen som ikke registreres øke med størrelsen og kompleksiteten (for eksempel store høler og mye blokker) i vassdraget. Størrelsen av denne feilkilden vurderes imidlertid ikke som så stor at den endrer på hovedresultatene i denne undersøkelsen. Gytefisktellingsperiodene vurderes å gi en langt bedre informasjon om bestandsforholdene enn hva fangststatistikk alene vil gjøre. Gytefisktellinger, eventuelt i kombinasjon med fangststatistikk, vurderes derfor å være godt egnet til å dokumentere endringer i størrelse og sammensetning av bestandene over tid. Dette vurderes som spesielt viktig slik situasjonen nå er for bestandene av villfisk i Hardangerfjordssystemet.

#### *Innslag av rømt oppdrettslaks*

I løpet av prosjektperioden ble det med ett unntak observert rømt oppdrettslaks i alle de undersøkte vassdragene, og i mange av vassdragene var innslaget av rømt oppdrettslaks betydelige. Innslaget varierte mellom vassdrag og mellom år. Det ble generelt observert flest oppdrettslaks i de større vassdragene samtidig som oppdrettslaksen kunne dominere antallsmessig over villaksen i flere av de mindre vassdragene. Det ble også observert flere oppdrettslaks i vassdragene i midtre og ytre deler av fjordssystemet. Det ble observert både nyrømt og blanke laks, og oppdrettslaks som hadde utviklet gytedrakt og som trolig hadde gått i sjøen en stund før de gikk opp i elvene.

Rømt oppdrettslaks kan i mange tilfeller skilles fra oppdrettslaks ut i fra ulike morfologiske kjennetegn som kroppsform, pigmentering, slitasje på finner og spord etc. Det vil imidlertid ikke være mulig å identifisere alle oppdrettslaks ut i fra morfologiske kjennetegn og en del oppdrettslaks vil som regel bli feilbestemt til villaks. Dette vil igjen føre til at det reelle innslaget av oppdrettslaks generelt vil være større enn det som fremgår av tellingene i undersøkelsen. Dette forholdet er det tatt hensyn til ved vurdering av resultatene. Andelen oppdrettslaks som er feilbestemt vil variere avhengig av bakgrunnen og dermed utseende til oppdrettslaksen som står på elva. Ved vurderingen av resultatene fra den enkelte elv har vi derfor lagt til grunn at de observerte oppdrettslaksene representerer et minimumsestimat for antall oppdrettslaks i bestanden. Til tross for denne feilkilden vurderes dykkerregistreingene som et svært nyttig redskap til å kartlegge omfanget og mellomårsvariasjon av rømt oppdrettslaks i vassdragene. Det er i vassdragene villfisken har sine gyteplasser og det er her oppdrettslaksen gjør mest skade siden den gyter med villfisken. Det er derfor spesielt viktig å følge utviklingen av antall rømte oppdrettslaks i vassdragene. Gytefisktelling som metode vurderes derfor som et godt og særlig viktig redskap for å evaluere effekten av pågående tiltak i oppdrettsnæringen for å redusere rømming.

### *Status for bestandene av villaks og sjøaure i Hardangerfjorden*

Gytefisktellingsene i perioden 2004-2007 viser at mange av laksebestandene i Hardangerfjordsystemet er fåtallige, og at mange av bestandene er betydelig redusert i forhold til tidligere. I mange av vassdragene er gytebestandene under de antatte gytebestandsmålene og på et nivå som trolig er begrensende for ungfiskproduksjonen. Resultatene fra gytefisktellingsene bekrefter dermed oppfatningen om at bestandssituasjonen er kritisk for laksebestandene i Hardangerfjorden. Spesielt bekymringsfullt er det i de tidligere viktige laksevassdragene i Eio/Bjoreio og Opo i de indre fjordområdene. Siden det ikke er mulig å skille ut all oppdrettslaks ved gytefisktellingsene vil andelen oppdrettslaks være underestimert og antallet villaks overestimert. Dette forholdet forsterker inntrykket av at gytebestandene av villaks er betydelig redusert og at bestandssituasjonen er kritisk. Unntaket er situasjonen i Etneelva som har vært, og er, den klart største laksebestanden i regionen. Etneelva har utløp i de ytre delene av fjordsystemet, og er det eneste vassdraget i undersøkelsene hvor laksebestanden er stor nok til å tåle beskatning og likevel ha en gytebestand over gytebestandsmålet. Det høye antallet rømte oppdrettslaks registrert i Etneelva de siste årene vurderes imidlertid som en alvorlig trussel mot bestanden.

For sjøauren synes bestandssituasjonen å være mer varierende. Alle vassdragene har selvreproduserende bestander, men størrelsen på gytebestandene varierer til dels mye mellom vassdrag. I flere av vassdragene, som i Granvinsvassdraget, Steinsdalselva, Omvikedalselva, og Uskedalselva, er det i dag livskraftige bestander av sjøaure, men nivåene på bestandene synes generelt å være betydelig redusert i forhold til tidligere. I andre vassdrag, som i Hattebergsvassdraget, Øyreselva, Austrepollelva, Bondhuselva, Osa m.fl. er bestandene av sjøaure marginale med gytebestandene bestående av kun noen titalls fisk.

Samlet sett viser undersøkelsen at bestandene av laks og sjøaure i Hardangerelvene er betydelig redusert. Basert på tellingen av gytefisk er flere bestander så fåtallige at det ikke gytes nok egg til at potensialet for ungfiskproduksjon realiseres. Dette gjør bestanden svært sårbar for trusselfaktorer som medfører unormalt høy dødelighet i sjøfasen. Den uheldige utviklingen gjør laksebestanden også særlig sårbar for det høye nivået av rømt oppdrettslaks som er registrert i vassdragene. Undersøkelsene påpeker derfor sterkt behovet for tiltak som kan redusere kjente trusselfaktorer som angrep av lakselus på utvandrende smolt og rømt oppdrettslaks.

### **Bakgrunn og hensikt**

Hardangerfjorden er en av de mest oppdrettsintensive områdene i Norge, og det har i lengre tid blitt satt spørsmål ved miljøkonsekvensene av dette. Mange av bestandene av laks og sjøaure i fjordsystemet har blitt betydelig redusert i de siste tiårene, og som et resultat er laksen fredet i en rekke vassdragene. Effektene av lakselus er holdt frem som en av de viktigste årsakene til nedgangen i bestandene av villfisk (Otterå et al. 2004), samtidig som det er uttrykt bekymring for at det høye innslaget av rømt oppdrettslaks i vassdragene medfører innkrysning og endringer av den genetiske sammensetning av villaksbestandene (Skaala et al. 2006). Den kritiske situasjonen for bestandene av villaks og sjøaure har ført til at forvaltningen har behov for gode bestandsindikatorer for å følge utviklingen for de ville bestandene av laksefisk i Hardangerfjordsystemet.

I perioden 2004-2007 har LFI-Unifob gjennomført gytefisktellinger ved snorkling i 18 forskjellige vassdrag i tilknytning til Hardangerfjordsystemet. Gytefisktellingsene har blitt finansiert fra flere hold, delvis gjennom forskningsrådsprosjektet TRACES, Fylkesmannen i

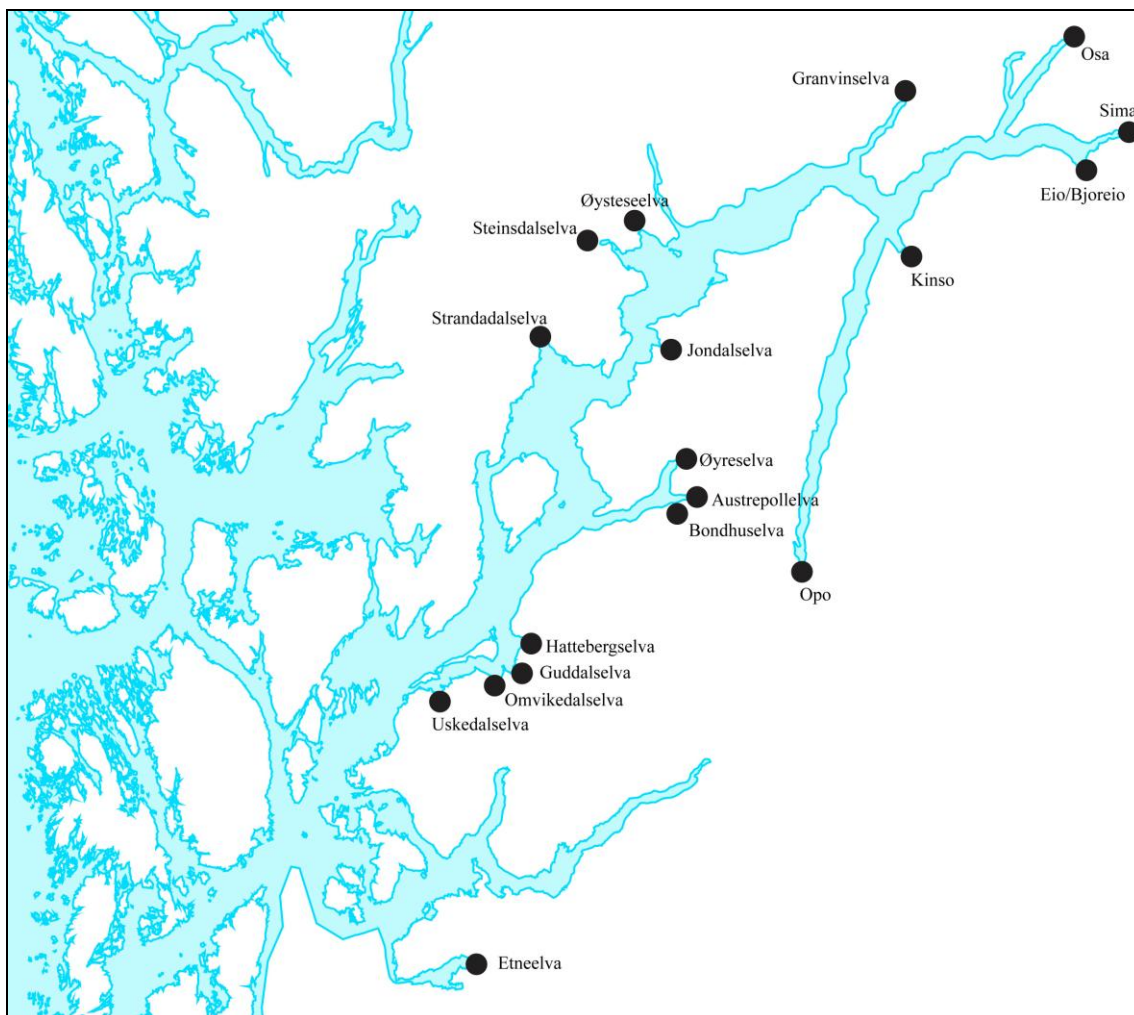
Hordaland, Direktoratet for naturforvaltning, Statkraft og en betydelig egeninnsats fra LFI-Unifob. Hensikten har vært å vurdere hvorvidt dykkerregistreringer av gytefisk er egnet for å overvåke bestandene av villaks og sjøaure, kartlegge situasjonen for bestandene av villaks og sjøaure i fjordsystemet og å kartlegge omfanget av rømt oppdrettslaks i gytebestandene.

## **Materiale og metode**

### *Områdebeskrivelse og gjennomføring*

Av de 17 vassdragene som i følge Direktoratet for naturforvaltning har registrerte laksebestandene i Hordaland (data fra [www.laksereg.no](http://www.laksereg.no)), har 9 av vassdragene utløp eller deler av utvandringingsruten i tilknytning til Hardangerfjordsystemet. Typisk for mange av vassdragene er at de har relativt korte lakseførende strekninger og relativt høy gradient, og i utgangspunktet ikke grunnlag for store bestandsstørrelser av laks antallsmessig. Etneelva, som er vedtatt som et nasjonalt laskevassdrag, er det største laksevassdraget i regionen og er det eneste vassdraget som fortsatt regnes for å ha en bestandsstørrelse som tillater beskatning i form av sportsfiske. Eidfjordvassdraget, med Eio og Bjoreio som de viktigste lakseførende elvestrekningene, var tidligere også blant de mest betydningsfulle laksevassdragene i Hordaland, med gode bestander av både stor laks og sjøaure. Siden 1980 har vassdraget vært sterkt påvirket av regulering. Granvinsvassdraget var tidligere et av de beste sjøaurevassdragene på Vestlandet, men hadde også en god laksebestand (Sægrov 2001). Opo, med utløp sentralt i Odda er en relativt kort og stri elv, som tidligere var kjent for et betydelig innslag av storlaks i bestanden. Øvrige laksevassdrag i regionen omfatter Kinso, Jondalselva, Hattebergsvassdraget, Steinsdalselva, samt Fjæraelva som drenerer innerst i Åkrafjorden. I tillegg er det en rekke mindre vassdrag som ikke regnes å ha egne selvreproduserende laksebestander, men hvor det har vært eller finnes gode bestander av sjøaure, og hvor det også regelmessig forekommer gyting av laks. Disse omfatter blant annet Sima, Osa, Øysteseelva, Strandadalselva, Øyreselva, Austrepollelva, Guddalselva, Omvikedalselva og Uskedalselva.

I perioden 2004-2007 ble det gjennomført gytefisketelling av laks og sjøaure i 18 av vassdragene tilknyttet Hardangerfjordsystemet (Figur 1). I enkelte av vassdragene ble kun utvalgte delstrekninger undersøkt på grunn av praktiske hensyn. Tellingen ble i hovedsak utført i løpet av oktober, men ugunstige vannførings og/eller siktforhold gjorde at noen av tellingen måtte utsettes og ble derfor først gjennomført i november. I to tilfeller måtte tellingen utføres etter november. En oversikt over lengde og areal på de ulike undersøkte elvestrekningene er gitt i Tabell 1.



**Figur 1.** Kart med oversikt over vassdragene i Hardangerfjordsystemet hvor det har blitt gjennomført gytefisktellinger i løpet av perioden 2004-2007.

For å kunne telle fisk i alle elvene i løpet av oktober besto tellemannskapene av tre dykkerlag á to personer og assistenter. Samtlige dykkere har erfaring fra denne type registreringer og er ansatt ved LFI-Unifob. Gytefisktellingene ble i hovedtrekk gjennomført etter retningslinjer gitt i henhold til Norsk Standard (NS 9456), ved at en eller flere dykkere med tørrdrakt og snorkel fløt parallelt nedover elva. Observasjoner av fisk ble fortløpende rapportert inn til en landmann som skrev ned og merket av observasjonene på et kart med målestokk 1:5000 eller 1:10000, eller ved at dykkerne noterte observasjonene underveis på vannfaste blokker. For å unngå dobbelttelling blir fisken registrert først når den har passert bak dykkeren, og ved at en prøver å se etter individuelle kjennetegn som sårmerker e.l. De undersøkte elvestrekningene varierer mye i størrelse, vannføring og utforming. I de mindre elvene var det derfor mest hensiktsmessig med en dykker, mens det i de større elvene ble benyttet to eller tre dykkere (Tabell 1).

Tabell 1. Oversikt over lengde, areal og antall personer som har dykket parallelt på de undersøkte elvestrekningene. Arealene er beregnet ved bruk av ArcGIS ut i fra N50 kartverk. Tallene i parentes angir at en på enkelte strekninger har vært to dykkere parallelt på enkelte krevende partier i elva, som i store hølør eller brede partier.

Vassdrag	Elvestrekning	Lengde km	Areal	Antall dykkere
Opo	Hele anadrom strekning	1,5	72 000	2
Kinso	Hele anadrom strekning	4,2	128 000	1 (2)
Eidfjordvassdraget	Bjoreio	4,9	129 000	1 (2)
	Eio	1,7	120 000	3
Sima	Hele anadrom strekning	3,6	50 000	1
Osa	Norddøla, ned til sjø	3,2	26 600	1
	Østdøla	0,7	6 500	1
Granvinsvassdraget	Oppstr. Granvinsvatnet	5,1	75 000	1
	Nedstr. Granvinsvatnet	2,4	47 000	2
Øysteseelva	Hele anadrom strekning	0,9	18 000	1
Steinsdalselva	Hele anadrom strekning	5,0	99 000	1
Jondalselva	Hele anadrom strekning	1,0	25 000	2
Strandadalselva	Hele anadrom strekning	2,0	33 760	1
Øyreselva	Hele anadrom strekning	1,1	28 000	1
Austrepollelva	Hele anadrom strekning	1,6	27 200	1
Bondhuselva	Hele anadrom strekning	2,5	45 000	1
Rosendalselvene	Hattebergselva, ned til sjø	2,0	36 000	1
Guddalselva	Fra Seimsfoss til sjø	0,2	2 250	2
Omvikedalselva	Fra bru v/Landa	4,4	47 000	1
Uskedalselva	Nedstr. Fjellandsvatnet	10,3	135 000	1 (2)
Etneelva	Nordelva	3,7	103 000	2
	Sørelva	5,3	91 700	2
	Samkom-sjø	3,2	93 800	2

Sjøauren ble delt inn i følgende størrelseskategorier: <1 kg, 1-2 kg, 2-3 kg og >3 kg. I tillegg ble det registrert "blenkjer", dvs. umoden fisk som returnerer for å overvintre i ferskvann etter en sommer i sjøen. Ettersom disse ikke skal gyte er de heller ikke tatt med i oversiktene som gytefisk.

Laksen ble delt inn i følgende størrelseskategorier: tert (<3 kg), mellomlaks (3-7 kg) og storlaks (>7 kg), og det ble skilt mellom oppdrettslaks og villaks. Oppdrettslaksen ble gjenkjent ut i fra morfologiske kriterier som kroppsfasong, pigmentering, finneslitasje etc. I mange tilfeller vil det ikke være mulig å identifisere oppdrettslaks utelukkende basert på utseende, og under gjennomføring av gytefisktellinger er det heller ikke alltid en får mulighet til å undersøke fiskene godt nok til å skille oppdrettslaks fra villaks. Erfaringsmessig vil en imidlertid sjelden feilbestemme villaks som oppdrettslaks. Andelen rømt oppdrettslaks som fremkommer ved gytefisktellinger vil derfor generelt være underestimert, og representerer derfor et minimumsestimert i forhold til det reelle innslaget av rømt oppdrettslaks i gytebestandene.

Et av formålene med undersøkelsene var å kartlegge hvilke vassdrag som var egnet for å gjennomføre gytefisktelinger med tanke på bestandsovervåking. Av den grunn har det kommet inn nye vassdrag utover i perioden, samtidig som en har gjort vurderinger underveis for hvor egnet vassdraget er for å videreføre årlige gytefisktelinger. En oversikt over hvilke



vassdragsavsnitt som ble undersøkt og datoer for gjennomføring i de ulike årene er gitt i Tabell 2. I Opo, som er brepåvirket, fører breslam til dårlig sikt utover høsten, og i mange år klarer ikke elva opp før i etterkant av gytetiden. Av den grunn har det ikke vært mulig å gjennomføre årlige tellinger Opo. I Kinso fører høy gradient til at store deler av elvestrekningen er stri og dårlig egnet for dykking. Av den grunn har ikke gytefisktellinger blitt videreført i Kinso. For øvrig har vannføringsforhold og sikt begrenset når og hvorvidt det har vært mulig å gjennomføre gytefisktellinger. For eksempel førte slamtilførsel i forbindelse med skogsarbeid rundt en bekk i nedslagsfeltet til Etneelva i 2005 til redusert sikt i hele elvestrekningen nedstrøms. Dette medførte at gytefisktellinger først kunne bli gjennomført noe i etterkant av gytetiden for laksen.

Tabell 2. Oversikt over dato for gjennomføring av gytefisktelling i de ulike vassdrag og elvestrekninger i perioden 2004-2007. I tilfeller merket med strek (-) ble elva oppsøkt for å gjøre gytefisktellinger, men avbrutt eller ikke gjennomført på grunn av ugunstige vannførings- og siktforhold.

Vassdrag	Elvestrekning	2004	2005	2006	2007
Opo	Hele anadrom strekning	18.okt	-		
Kinso	Hele anadrom strekning		19.okt		
Eidfjordvassdraget	Bjoreio	19.okt	19.okt	2.feb*	3.okt
	Eio	19.okt	19.okt	-	3.okt
Sima	Hele anadrom strekning		19.okt	12.okt	4.okt
Osa	Norrdøla, ned til sjø			3.okt	5.okt
	Østdøla				21.nov
Granvinsvassdraget	Oppstr. Granvinsvatnet	19.okt	18.okt	18.okt	3.okt
	Nedstr. Granvinsvatnet	19.okt	18.okt	18.okt	3.okt
Øysteseelva	Hele anadrom strekning	21.okt	17.okt	13.okt	
Steinsdalselva	Hele anadrom strekning	21.okt	17.okt	13.okt	4.okt
Jondalselva	Hele anadrom strekning	28.okt	12.okt	-	4.okt
Strandadalselva	Hele anadrom strekning			3.nov	4.okt
Øyreselva	Hele anadrom strekning	17.okt	3.nov	4.okt	1.okt
Austrepollelva	Hele anadrom strekning			4.okt	1.okt
Bondhuselva	Hele anadrom strekning	17.okt	-	18.okt	5.okt
Rosendalselvene	Hattebergselva, ned til sjø	21.okt	17.okt	4.okt	2.okt
Guddalselva	Fra Seimsfoss til sjø	21.okt	17.okt	17.okt	2.okt
Omvikedalselva	Fra bru v/Landa	21.okt	17.okt	17.okt	2.okt
Uskedalselva	Nedstr. Fjellandsvatnet			17.okt	1.okt
Etneelva	Nordelva	20.okt	4.des*	16.okt	14.nov
	Sørelva	20.okt	-	16.okt	14.nov*
	Samkom-sjø	20.okt	4.des*	16.okt	14.nov

\*I Etneelva i 2005 og Bjoreio i 2006 ble gytefisktellinger utført sent pga høy vannføring og vedvarende dårlig siktforhold, i Sørelva i 2007 førte noe høy vannføringsforhold til dårlige observasjonsforhold under telling.

#### Beregning av eggtetthet

Eggtetthet er beregnet ut i fra en forventning om antall egg som produseres per hofisk i de ulike størrelseskategoriene i bestandene i forhold til elvearealet gitt i Tabell 1. Ettersom det ikke har vært mulig å skille fullstendig mellom hannfisk og hofisk under gytefisktellinger kjenner vi ikke kjønnsfordelingen for ulike størrelsesgrupper av fisk i de ulike vassdragene. For de fleste vassdragene finnes det heller ikke tilgjengelige data for gjennomsnittstørrelse eller eggproduksjon for de ulike størrelseskategoriene. For alle vassdragene har vi derfor

brukt tilsvarende kjønnsfordeling som Jensen et al. (2004) brukte i Eidfjordvassdraget, der de antok med andel hofisk blant tert, mellomlaks og storlaks som henholdsvis 20%, 80% og 70%, mens det for sjøaure ble antatt en kjønnsfordeling 50 % for alle størrelsesgruppene. Videre har vi antatt at gjennomsnittsvekten for tert, mellomlaks og storlaks å være 2 kg, 5 kg og 8 kg, og for sjøaure er i observasjonskategoriene 0,5-1 kg, 1-2 kg 2-3 kg og >3 kg henholdsvis 0,75 kg, 1,5 kg, 2,5 kg og 4 kg. Antall egg per kg hofisk ble antatt å være 1300 for laks og 1900 for sjøaure (Sættem 1995). I vassdrag hvor det inngår flere vassdragsavsnitt, er kun eggtettheten beregnet ut i fra de vassdragsavsnittene hvor det foreligger gytefisktellinger i de ulike årene. Arealene som er brukt er beregnet ved bruk av ArcGIS ut i fra N50 kartverk og kan derfor avvike noe fra reelt vanndekt areal.

## Resultat og diskusjon

### Antall gytefisk

#### Laks

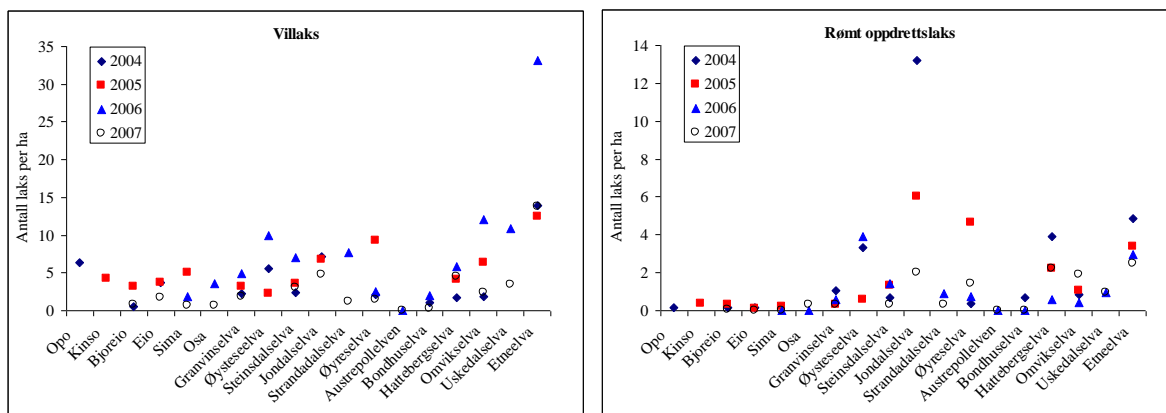
Registreringer av laks i gytefisktellingerne i årene 2004-2007 er oppsummert i Tabell 3. En mer detaljert presentasjon av resultatene er gitt i appendiks. Etneelva skiller seg ut ved å ha den klart største gytebestanden av laks av de undersøkte vassdragene, både i absolutte antall og i antall fisk per arealenhet (Figur 2). I Etneelven i 2005 og Bjoreio i 2006 ble gytefisktellingerne utført noe sent i forhold til gytetiden, noe som høyst sannsynlig medførte at gytebestanden ble underestimert. For øvrig ble det påvist gytefisk av laks i alle de undersøkte vassdragene i alle årene, med unntak av Austrepollelven hvor det ikke ble observert laks i de to årene den ble undersøkt (2006 og 2007).

Tabell 3. Oversikt over antall observerte villaks og rømt oppdrettslaks under gytefisktellinger i vassdrag i Hardangerregionen i årene 2004-2007. Etersom oppdrettslaks her er bestemt ut i fra morfologiske kjennetegn under dykking vil en del oppdrettslaks høyst sannsynlig feilbestemmes som villaks. Dette forholdet medfører at antall villaks blir overestimert og at antallet oppdrettslaks blir tilsvarende underestimert.

Elv	Villaks				Rømt oppdrettslaks			
	2004	2005	2006	2007	2004	2005	2006	2007
Opo	46	-	-	-	1	-	-	-
Kinso	-	54	-	-	-	5	-	-
Bjoreio	7	41	11	11	2	4	0	1
Eio	45	44	-	20	2	1	-	0
Sima	-	25	9	3	-	1	0	0
Osa	-	-	12	2	-	-	0	1
Granvinselva	28	39	60	23	13	4	7	4
Øysteseelva	10	4	18	-	6	1	7	-
Steinsdalselva	24	35	70	30	7	13	14	3
Jondalselva	18	17	-	12	33	15	-	5
Strandadalselva	-	-	26	4	-	-	3	1
Øyreselva	6	26	7	4	1	13	2	4
Austrepollelven	-	-	0	0	-	-	0	0
Bondhuselva	5	-	9	1	3	-	0	0
Hattebergselva	6	15	21	16	14	8	2	8
Guddalselva***	3	1	16	16	0	0	2	0
Omvikselva	9	30	57	11	4	5	2	9
Uskedalselva	-	-	146	47	-	-	13	13
Etneelva	404	245*	958	400	140	67	86	72

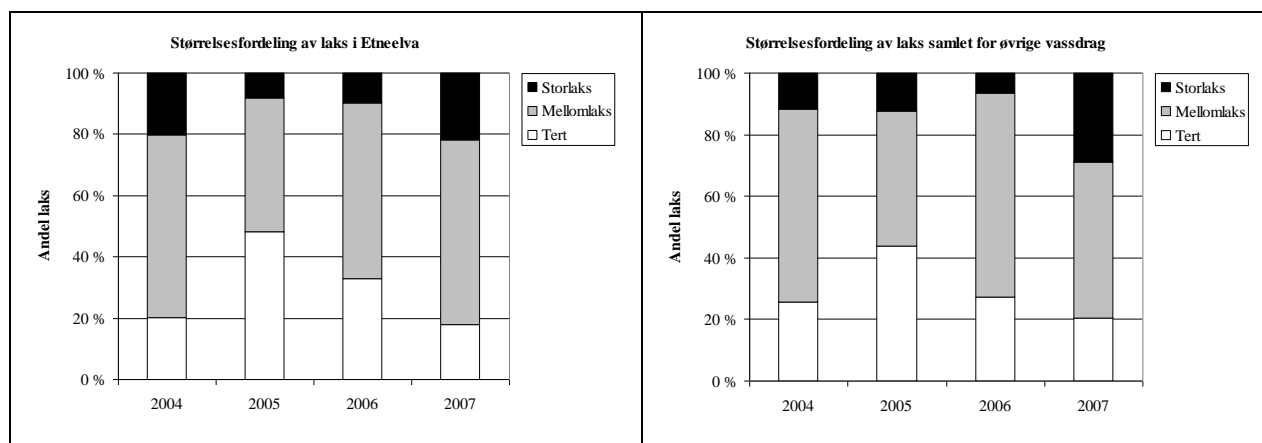
\* Pga vedvarende høy vannføring og dårlig sikt ble tellingerne i Etneelva i 2005 og i Bjoreio i 2006 utført noe etter gytetiden. I Etne ble det ikke gjennomført telling i Sørrelva i 2005.\*\*Kun Nordøla, Austdøla inngår ikke i tellingerne i 2006.\*\*\*Guddalselva nedenfor Seimsfossen.

Under gytefisketelling vil ofte noe fisk klare å unngå dykkerene eller stå plassert slik at det ikke vil være mulig å observere dem. Gytefisketelling ved dykking vil derfor alltid representere minimumsestimater av gytebestanden. Graden av underestimering vil generelt være størst i store elver og i dype partier med store kulper hvor siktforholdene er redusert. I tillegg vil en ikke alltid være i stand til å identifisere oppdrettslaks ut i fra morfologiske kriterier, noe som vil medføre at antall rømt oppdrettslaks i Tabell 3 vil være underestimert, og antall villaks tilsvarende overestimert.

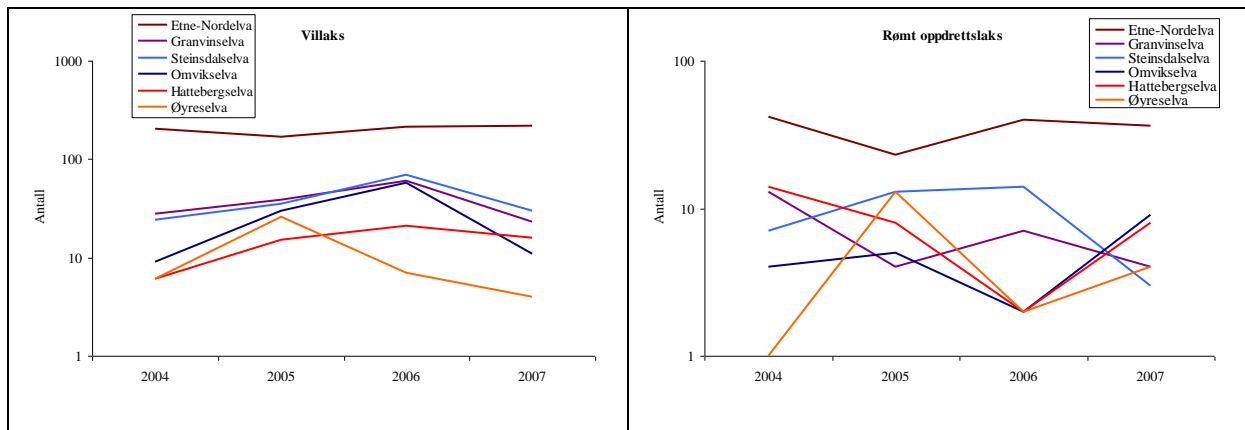


Figur 2. Antall villaks (t.v.) og rømt oppdrettslaks (t.h.) observert per hektar elveareal som ble undersøkt under gytefisketellingene i årene 2004-2007.

Størrelsesfordelingen av villaks varierte mellom år, men var nokså lik mellom vassdrag innen år (Figur 3). Gytebestanden i 2005 skilte seg ut ved å ha et høyt innslag av tert (små laks) i 2005, noe som også viste igjen i økte andel av mellomlaks i 2006 og storlaks i 2007. Ettersom det ikke har blitt gjennomført gytefisketelling i alle vassdragene alle årene, samt at observasjonsforholdene har vært noe varierende mellom år i noen vassdrag, så er det vanskelig å si noe generelt om utviklingen gjennom undersøkelsesperioden. Fra fem av vassdragene hvor det foreligger data for hele perioden og hvor gytefisketellingene ble gjennomført under stabile forhold hvert år, ser en at registreringene av villaks øker i perioden fram til 2006 for deretter å gå ned igjen i 2007 (Figur 4). En ser ingen generell trend i antall registreringer av oppdrettslaks i de samme fem elvene over denne perioden.



Figur 3. Størrelsesfordeling for villaks observert ved gytefisketelling i Etnelva (t.v.) og samlet i de øvrige elvene (t.h.).



Figur 4. Antall villaks (t.v.) og antall rømt oppdrettlaks (t.h) gjennom undersøkelsesperioden for fem av vassdragene hvor det finnes sammenlignbare data for hele perioden. Merk y-aksen er logaritmisk.

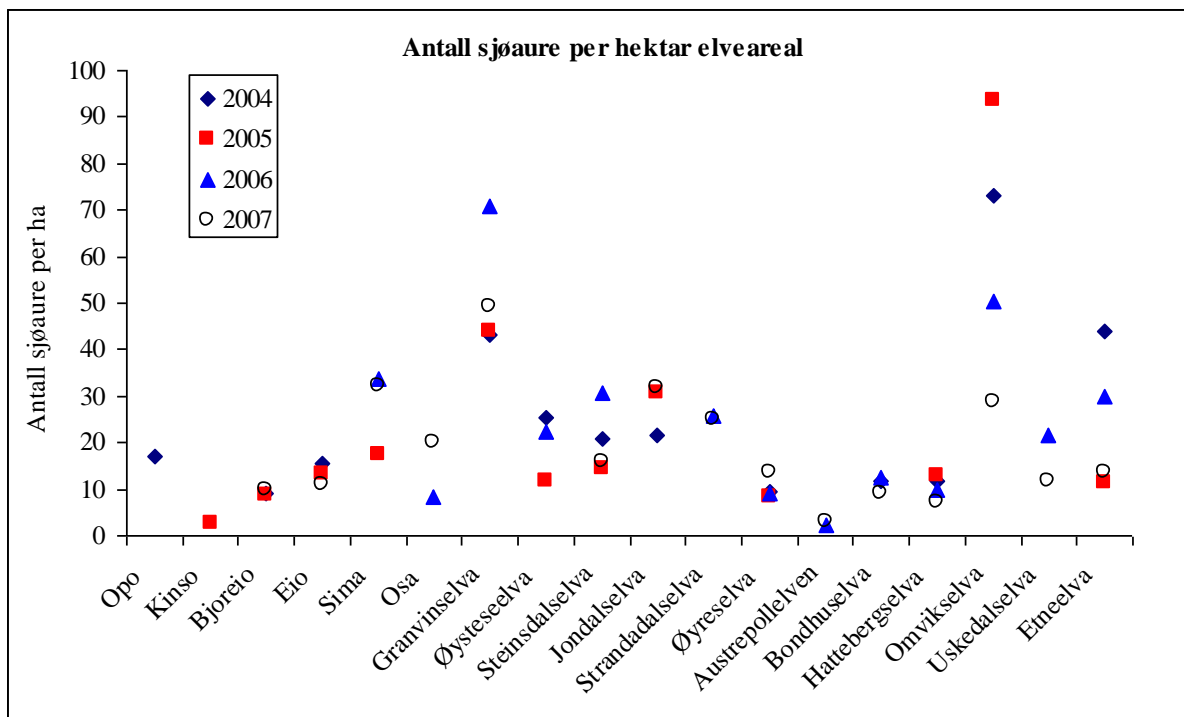
### Sjøaure

Antall sjøaure observert under gytefisktellingerne i årene 2004-2007 er oppsummert i Tabell 4. Etneelva og Granvinselva skiller seg ved å ha de klart største gytebestandene av sjøaure. I tillegg skiller Omvikselva seg ut som en av bestandene med flest gytefisk per elveareal (Figur 5). På grunn av høy vannføring og vedvarende dårlig siktførhold ble gytefisktellingerne i Etneelva i 2005 og 2007 og i Bjoreio i 2006 gjennomført sent og etter at mye av sjøauren hadde gytt og hadde forlatt vassdraget. Dette er høyst sannsynlig årsaken til at det ble observert relativt sett færre fisk ved disse gytefisktellingerne, og det er grunn til å tro at gytebestanden av sjøaure i disse tilfellene er kraftig underestimert.

Tabell 4. Oversikt over antall observert sjøaure under gytefisktellinger i vassdrag i Hardangerregionen i hvert av årene 2004-2007.

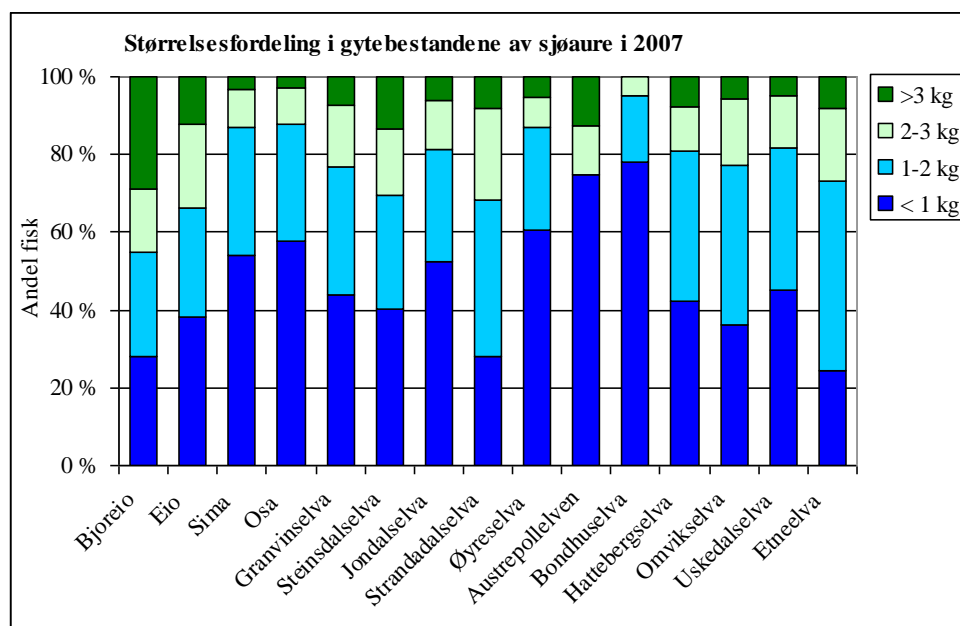
Elv	Antall sjøaure			
	2004	2005	2006	2007
Opo	124	-	-	-
Kinso	-	33	-	-
Bjoreio	119	113	10*	128
Eio	185	161	-	131
Sima	-	87	169	161
Osa	-	-	27**	66
Granvinselva øvre	528	534	866	599
Øysteseelva	46	21	40	-
Steinsdalselva	205	141	305	157
Jondalselva	54	77	-	80
Strandadalselva	-	-	87	85
Øyreselva	26	23	25	38
Austrepollelva	-	-	6	8
Bondhuselva	52	-	57	41
Hattebergselva	42	47	35	26
Guddalselva (nedstr Seimsfoss)	9	8	11	12
Omvikselva	343	440	236	136
Uskedalselva	-	-	292	158
Etneelva	1268	221*	863	392*

\* Forventet lave antall fordi vedvarende høy vannføring og dårlig sikt medførte at tellingene i Etneelva i 2005 og i Bjoreio i 2006 ble utført noe etter gytetiden for sjøaure. I Etne inngår ikke Søreelva i tellingene i 2005. \*\*Kun Nordøla, Austdøla inngår ikke i tellingene i 2006.



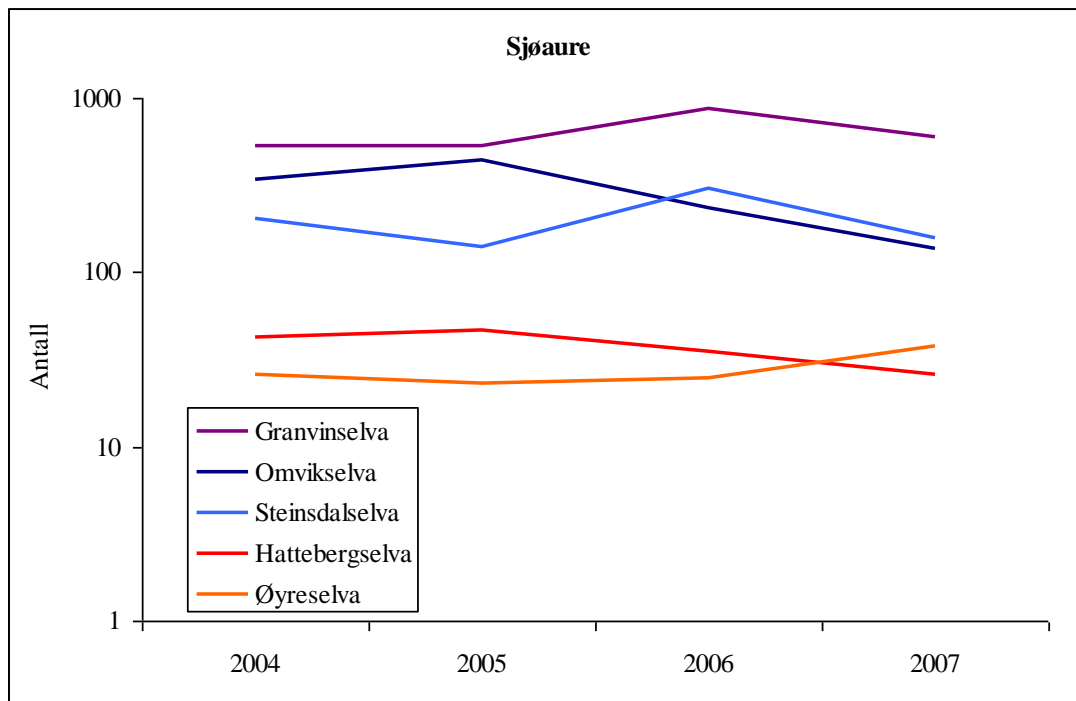
Figur 5. Antall sjøaure observert per hektar elveareal som ble undersøkt under gytefisktellningene i årene 2004-2007.

Fordelingen av ulike størrelsesgrupper av sjøaure syntes ikke å vise noen klar systematisk variasjon gjennom undersøkelsesperioden. Størrelsesfordelingen varierte imidlertid noe mellom vassdragene, med eksempel fra størrelsesfordeling fra gytefisktellningene i 2007 vist i Figur 6. Bjoreio er et av vassdragene som skiller seg ut ved å ha spesielt stor andel av store sjøaurer. Ser en vassdragene under ett så har 23-30 % av gytebestandene i undersøkelsesperioden bestått av sjøaure >2 kg.



Figur 6. Størrelsesfordeling for sjøaure registrert under gytefisktellningene høsten 2007.

I flere av vassdragene i de midtre og ytre delene av Hardangerfjordsystemet ble det i 2007 registrert en nedgang i sjøaurebestandene som ikke kan forklares med forholdene under gytefisktellningene. I blant annet Omvikdalselva, Uskedalselva og Hattebergselva var gytebestandene i 2007 nærmest halvert i forhold til året før. Denne trenden var imidlertid ikke gjennomgående for alle bestandene i fjordsystemet (Figur 7 og Tabell 4). Det er derfor foreløpig vanskelig å si hvorvidt dette representerer en generell trend i bestandsutviklingen for sjøauren i området.



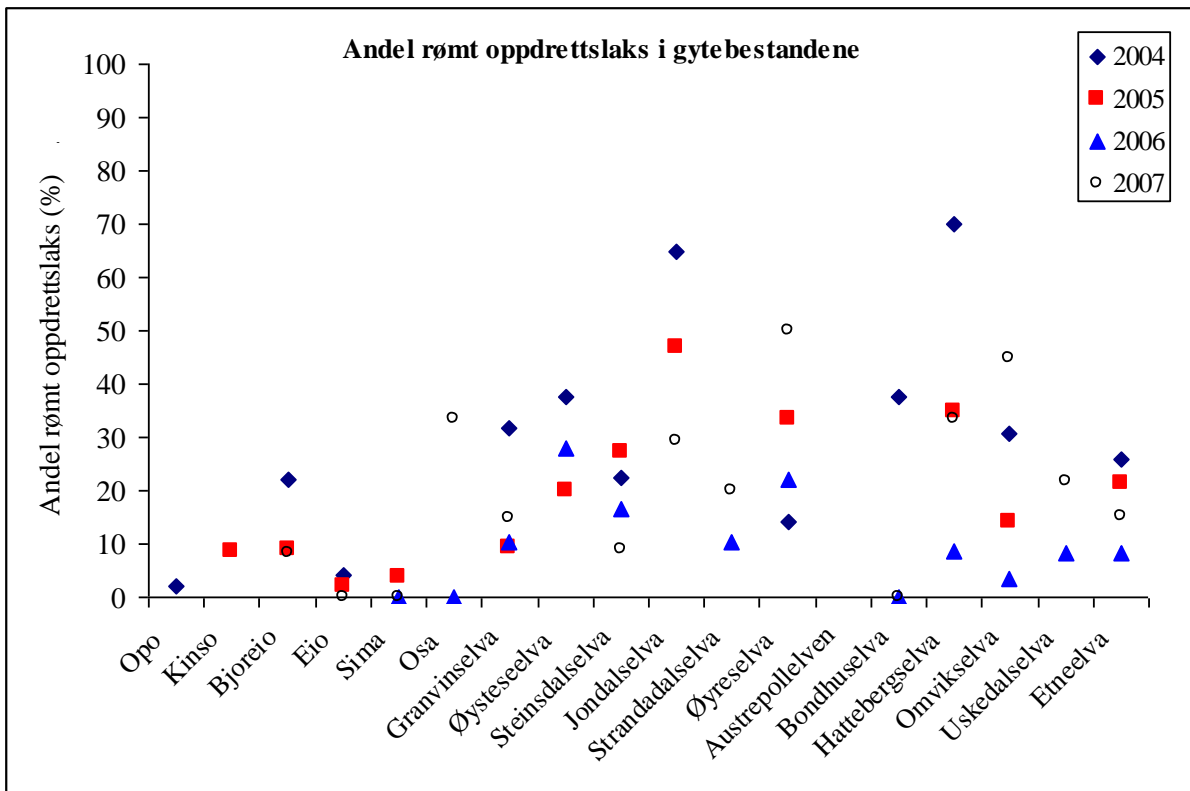
Figur 7. Antall sjøaure observert gjennom undersøkelsesperioden i de fem vassdragene hvor det foreligger sammenlignbare data for alle fire årene. Merk y-aksen er logaritmisk.

#### *Innslag av rømt oppdrettsfisk*

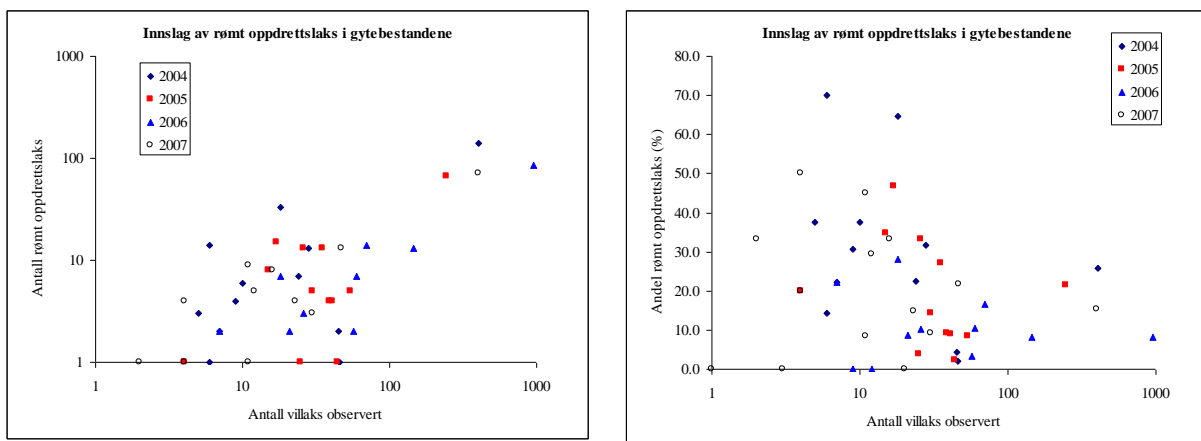
Under gytefisktellningene i perioden 2004-2007 ble det samlet registrert fra 121-213 rømte oppdrettslaks i de undersøkte vassdragene hvert år (Tabell 3). Dette utgjorde fra 9-27 % av det totale antallet observasjoner av laks i de ulike årene. Det ble observert rømt oppdrettslaks i alle de undersøkte vassdragen i løpet av prosjektperioden, med unntak av Austrepollelva hvor det ikke ble observert laks.

#### *Innslaget av rømt oppdrettslaks varierte til dels mye mellom vassdrag, og mellom år innen vassdragene*

Figur 8). Andelen rømt oppdrettslaks var generelt høyere i vassdragene i de midtre og ytre delene av Hardangerfjorden enn hva den var i de indre delene av fjordsystemet. Det ble observert flest rømt oppdrettslaks i de vassdragene hvor det også ble observert flest villaks (Figur 9), og det ble i alle årene observert klart flest oppdrettslaks i Etneelva. På den annen side utgjorde oppdrettslaksen ofte en betydelig større andel av gytebestanden i vassdrag hvor villaksen var fåtallig (Figur 9).



Figur 8. Innslag av fisk som kunne identifiseres som rømt oppdrettslaks i gytebestandene i årene 2004-2007.



Figur 9. Sammenheng mellom antall observert villaks og antall oppdrettslaks i de undersøkte vassdragene i de ulike årene (t.v.), og mellom antall villaks og andel av rømt oppdrettslaks i gytebestandene (t.h.).

Den rømte oppdrettslaksen som ble observert i de ulike vassdragene varierte til dels mye i morfologi og pigmentering. Enkelte var blanke og bar tegn på å være rømt nokså nylig, og trolig var en høy andel av disse heller ikke kjønnsmoden. Andre bar preg av å ha oppholdt seg

en tid i sjøen før de vandret opp i elvene, og hadde utviklet tydelig gytedrakt. Den sistnevnte gruppen kunne i mange tilfeller være vanskelig å skille fra villaks eller stor sjøaure, og kunne ofte bare skilles på uregelmessigheter på finner og spord.

I mange tilfeller vil det imidlertid ikke være mulig å identifisere oppdrettsfisk utelukkende ut i fra morfologiske kjennetegn. Som nevnt tidligere fører dette til en underestimering av andelen oppdrettslaks. Størrelsen på denne feilkilden kan en få et inntrykk av ved å vurdere resultatene fra det såkalte "Utaksprosjektet" hvor oppgaven var å ta ut rømt oppdrettslaks fra et utvalg Vestlandselver høsten 2007 (Lehmann et al. 2008). I et utvalg av elvene ble 26 av totalt 90 laks bestemt til oppdrettslaks ved visuell inspeksjon av den enkelte fisk på land. Etter skjellkontroll viste det seg at det reelle antall oppdrettslaks var 32, slik at andelen identifisert som oppdrettslaks ved visuell inspeksjon alene var på ca 80%. Ved gytefisktellinger må en forvente at denne deteksjonsprosenten kan være betydelig lavere, dette gjelder særlig i større vassdrag med reduserte observasjonsforhold.

Til tross for at tallene av rømt oppdrettslaks som registreres ved dykkeregistreringene av gytefisk representerer minimumstall for innslaget i gytebestanden, vurderes metoden å gi en god pekepinn på omfanget av rømt oppdrettslaks i gytebestandene. Metoden vurderes derfor som godt egnet for å kartlegge omfanget og følge utviklingen av rømt oppdrettslaks i vassdragene over tid.

Det reelle innsiget av rømt oppdrettslaks i vassdragene vil også være en del større ettersom det i mange av vassdragene blir tatt ut en oppdrettslaks ved sportsfiske før gytefisktellinger gjennomføres. Som følge av rapporter om omfattende mengder av nyrømt fisk i flere vassdrag, åpnet Fylkesmannen i Hordaland for fiske utover den ordinære fiskesesongen i flere av vassdragene i undersøkelsesperioden. Fra dette fisket ble det i 2004 rapportert inn et fangstkvantum på totalt 941 oppdrettslaks, eller 1983 kg, fra 10 elver i Hardanger og Sunnhordland (Tabell 5). Bare i Etneelva ble det under dette fiske i 2004 tatt ut totalt 524 oppdrettslaks, eller 980 kg, som hovedsaklig ble tatt ut før gytefisktellinger ble gjennomført. Til sammenligning ble det rapportert inn 478 laks med en samlet vekt på 1627 kg under det ordinære sportsfiske i Etneelven i 2004. Dersom en også tar i betraktning oppdrettslaksen observert under gytefisktellingen, og at det også inngår en del rømt oppdrettslaks i sportsfiskefangstene i den ordinære fiskesesongen, tilsier dette at den totale mengden av oppdrettslaks som gikk opp i Etneelva i 2004 var omtrent like stort som innsiget av villaks. Et så stort innsig av rømt oppdrettslaks i denne viktige bestanden av villaks er svært uheldig. En relativt stor andel av oppdrettslaksen som ble registret i Etneelva i 2004 var blank og bar tydelig preg av å være nylig rømt. De fleste av disse fiskene var trolig ikke kjønnsmodne og vil derfor ikke bidra i gytingen. Dette forholdet vil motvirke den uheldige påvirkningen på villfiskbestanden.



Tabell 5. Rapporterte fangster fra utfisking av rømt oppdrettslaks etter ordinær fiskesesong høsten 2004 i Hordaland. Data fra Fylkesmannen i Hordaland.

Vassdrag	Antall	Vekt (kg)	Gj.sn. vekt	Ant. regnbueaure
Kinso	2	4.5	2.3	
Granvin	5	7.3	1.5	
Ænes	38	106	2.8	
Rosendalselvene*	Ca. 290	Ca. 695		
Guddal	25	41.5	1.7	
Omvikedalselva**	5	11.1	2.2	
Uskedalselva	36	93.1	2.6	
Etneelva	524	980	1.9	2
Frugardselva	15	43.9	2.9	3
Fjonelva	1	0.7	0.7	79
<b>Sum</b>	<b>941</b>	<b>1983</b>	<b>2.1</b>	<b>84</b>

\* Detaljert fangstrapport er ikke oppgitt.

\*\* Fangstene fra Omvikedalselva representerer bare tall fra delen av vassdraget som Omvikedalen Grunneierlag disponerer.

Det høye innslaget av rømt oppdrettslaks har vært en vedvarende situasjon i vassdragene i Hardangerregionen i en årrekke (Sægrov 2001), noe som har vakt bekymring med hensyn til innkrysning av oppdrettslaks i villaksbestandene i regionene. I Etneelva ble det dokumentert vellykket gyting av oppdrettslaks allerede i 1989 (Lura & Sægrov 1991). Ved å sammenligne tilgjengelig genetisk materiale fra gytebestander med historisk materiale, fant Skaala et al. (2006) at den genetiske sammensetningen av laksebestandene i både Opo og Eio var forandret i forhold til tidligere, og at dette høyst sannsynlig skyldtes innblanding av rømt oppdrettslaks. Det ble imidlertid ikke funnet tegn til endringer i den genetiske sammensetningen i Etneelva, noe som kan skyldes at gytesuksessen til oppdrettslaks er mindre i bestander med stor konkurranse fra villfisk (Fleming et al. 1996).

I tillegg til rømt oppdrettslaks ble det i flere av vassdragene også observert rømt regnbueaure. Flest ble det observert i Bondhuselva, hvor det i 2004 ble observert hele 141 regnbueaurer i nedre deler av vassdraget, men også i Granvinselva, Øyreselva, Hattebergselva, Guddalselva, Omvikselva og i Etneelva ble det observert regnbueaure. Observasjonene av regnbueaure omfatter både mindre umodne fisk (parr/smolt) og større kjønnsmodne fisk.

#### *Bestandsstatus for villaks og sjøaure i Hardangerfjorden*

Det har i lengre tid vært uttrykt bekymring for tilstanden for de ville bestandene av laks og sjøaure i vassdragene i Hardangerregionen. Ut i fra Direktoratet for naturforvaltning sin kategorisering av bestandstilstanden for laks i de aktuelle vassdragene (Tabell 6) er to bestander ansett som tapt/utryddet, åtte ansett som truet, mens kun en bestand (Etneelva) er ansett som moderat/lite påvirket men hensynskrevende. De øvrige elvene er vurdert å ha regelmessig forekomst av laks men ikke ansett å ha, eller har hatt selvreproduserende laksebestander. På grunn av den uheldige bestandssituasjonen for vassdragene er det innført omfattende restriksjoner på fiske, og mange av de aktuelle laksebestandene har vært fredet i en årrekke. For sjøauren er situasjonene noe bedre, ni av bestandene er kategorisert som redusert, mens ti av bestandene er kategorisert som moderat/lite påvirket men hensynskrevende. Påvirkningsfaktorer som har vært avgjørende for kategoriseringen varierer noe mellom vassdrag, men lakselus er satt som avgjørende påvirkningsfaktor for nesten samtlige av bestandene.

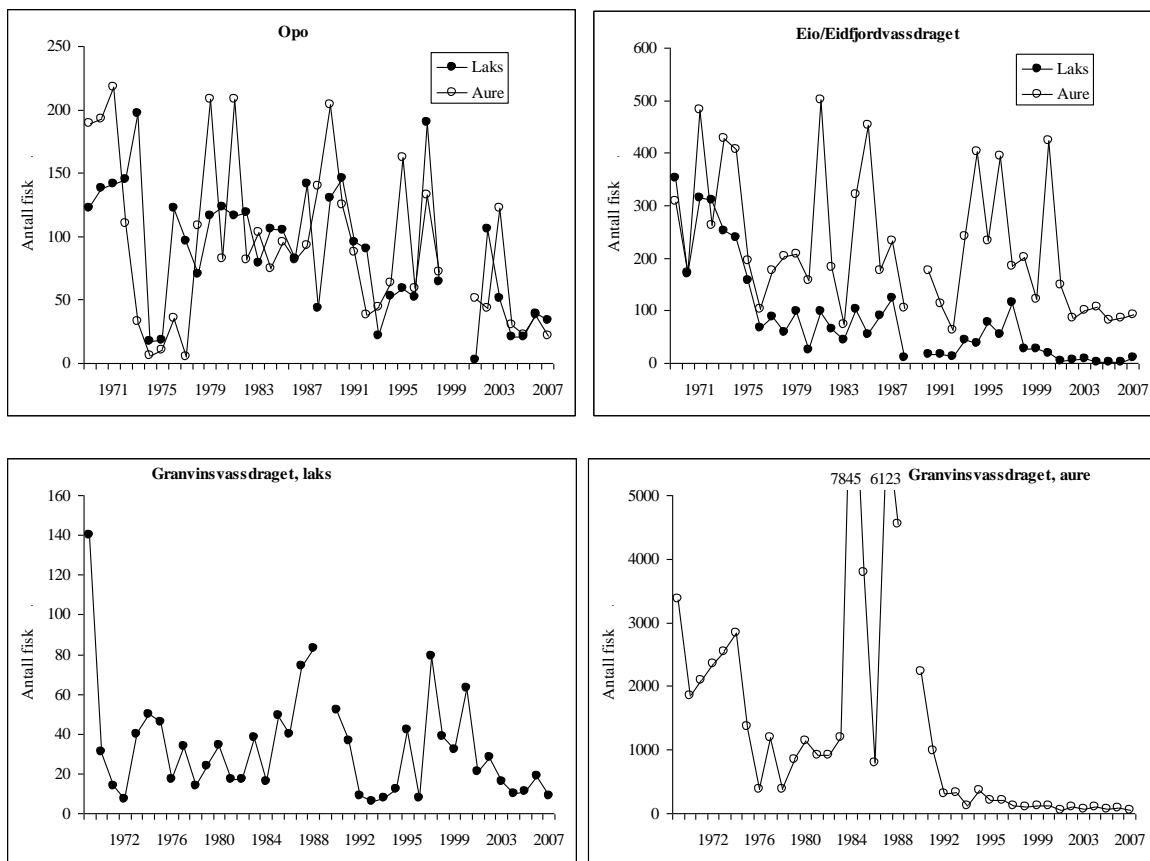
Tabell 6. Direktoratet for naturforvaltning sin klassifisering av bestandstilstand for laks og sjøaure i de aktuelle vassdragene (<http://www.laksereg.no/>). Påvirkningsfaktorer som har vært avgjørende for kategori plassering er gitt i parentes.

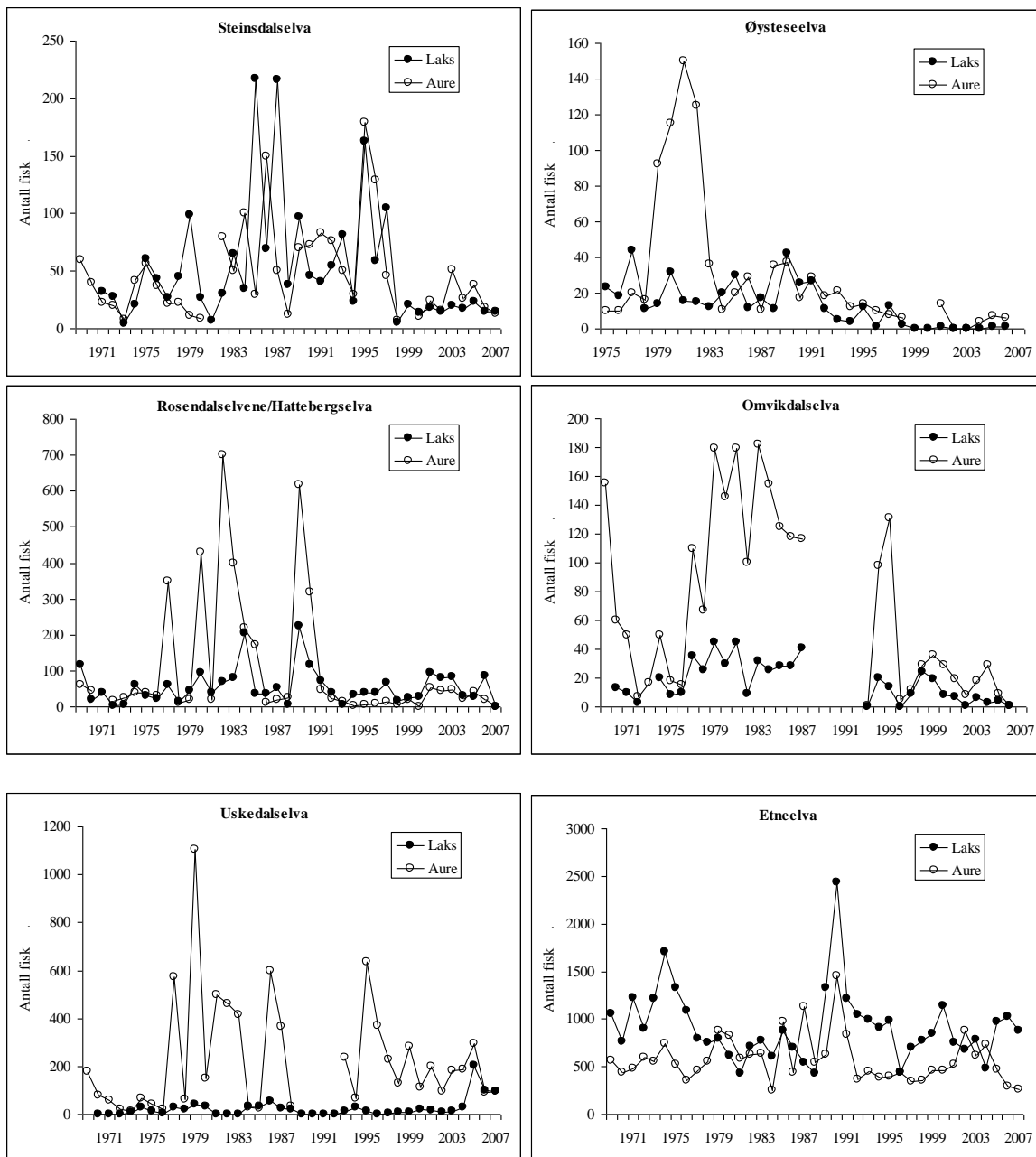
Vassdrag	Laks	Sjøaure
Opo	Truet (lakselus)	Moderat/lite påvirket – hensynskrevende (lakselus)
Kinso	Truet (lakselus)	Moderat/lite påvirket – hensynskrevende (lakselus)
Bjøreio	Truet (Vassdragsregulering, lakselus)	Moderat/lite påvirket – hensynskrevende (Vassdragsregulering, lakselus)
Eio	Truet(Vassdragsregulering, lakselus)	Moderat/lite påvirket – hensynskrevende (Vassdragsregulering, lakselus)
Sima	Ikke selvreproduserende bestand	Redusert (Vassdragsregulering, lakselus, andre fysiske inngrep)
Osa-Nordøla	Ikke selvreproduserende bestand	Moderat/lite påvirket – hensynskrevende (Vassdragsregulering, lakselus)
Osa-Austdøla	Tapt (Vassdragsregulering)	Redusert (Vassdragsregulering, lakselus, andre fysiske inngrep)
Granvinselva	Truet (lakselus)	Redusert (lakselus)
Øysteseelva	Ikke selvreproduserende bestand	Redusert (lakselus)
Steinsdalselva	Truet (lakselus)	Redusert (lakselus)
Jondalselva	Truet (lakselus)	Redusert (lakselus)
Strandadalselva	Ikke klassifisert	Ikke klassifisert
Øyreselva	Ikke selvreproduserende bestand	Moderat/lite påvirket – hensynskrevende (lakselus)
Austrepollelven	Tapt (Vassdragsregulering)	Redusert (Vassdragsregulering, lakselus, andre fysiske inngrep)
Bondhuselva	Ikke selvreproduserende bestand	Redusert (lakselus)
Hattebergselva	Truet (forsuring, lakselus)	Moderat/lite påvirket – hensynskrevende (lakselus)
Guddalselva	Ikke selvreproduserende bestand	Redusert (lakselus, andre fysiske inngrep)
Omvikselva	Ikke selvreproduserende bestand	Moderat/lite påvirket – hensynskrevende (lakselus)
Uskedalselva	Ikke selvreproduserende bestand (forsuring)	Moderat/lite påvirket – hensynskrevende (lakselus)
Etneelva	Moderat/lite påvirket – hensynskrevende (lakselus)	Moderat/lite påvirket – hensynskrevende (lakselus)

### Fangststatistikk og bestandsstørrelse før og nå

Utover den offisielle fangststatistikken finnes det lite historisk informasjon om størrelser på bestandene av laks og sjøaure i de aktuelle vassdragene. Fangststatistikken bakover i tid er til dels svært mangelfull som følge av underrapportering i flere av de aktuelle vassdragene. Særlig i de mindre vassdragene er fangstrapporteringen nokså sporadisk eller helt fraværende. I de to siste tiårene er også fangstene mange steder er preget av et høyt innslag av rømt oppdrettslaks, men ettersom denne andelen ikke er synliggjort i statistikken er det vanskelig å til å si noe om hvor mye villaks som reelt er tatt i denne perioden. For de vassdragene hvor det foreligger fangststatistikk er det skilt mellom laks og aure f.o.m. 1969, og i Figur 10 er det vist eksempler fra åtte av de aktuelle hvor det finnes fangststatistikk.

Et annet problem med å bruke fangststatistikk i slike tilfeller er at den kun sier noe om mengden fisk som er fanget. Ettersom beskatningen vil variere en del både mellom vassdrag og år er det vanskelig å bruke fangststatistikken direkte til å si noe om den totale mengden gytefisk som har vandret opp i vassdragene (innsiget). Fangststatistikken kan allikevel gi nyttig informasjon om nivåene for bestandsstørrelsene bakover i tid. Den høyeste registrerte årlige fangsten i statistikken kan brukes som et relativt mål på hva som har vært potensialet til en bestand, ettersom det representerer det høyeste fangstuttaket som faktisk er gjort fra bestanden. Den gjennomsnittlige fangsten over en periode vil også representere et minimumsmål på bestandsstørrelse som er opprettholdt over lengre tid i vassdraget.





Figur 10. Fangststatistikk fra de aktuelle elvene hvor det foreligger fangststatistikk bakover i tid. I Opo, Eidfjordvassdraget, Granvinselva, Steinsdalselva, Øysteseelva og Rosendalselvene har laksen i de siste årene vært fredet, og innrapportert laks omfatter hovedsaklig oppdrettslaks. I Granvinselva inngår det trolig noe innsjøaure i statistikken i årene med de høyeste fangstene. Data fra Fylkesmannen i Hordaland.

### *Laks*

I Tabell 7 er det gitt en oversikt over maksimumsfangst og gjennomsnittlig fangst av laks i de aktuelle vassdragene hvor det tilgjengelige fangststatistikker. For å unngå innflytelse av høye innslag av rømt opprettslaks er perioden begrenset til 1969-1990. I tillegg har vi angitt hvor stort innsiget må ha vært for å opprettholde en gjennomsnittlig fangst ved en beskatningsprosent på 50 %, som er nær den gjennomsnittlige beskatningen ved sportsfiske i Vestlandselver (Sættem 1995, Hellen et al. 2004). Det beregnede innsiget av villaks, dvs. totalt antall villaks som vandret opp i vassdraget i elvene i perioden 2004-2007 er også gitt i Tabell 7. I vassdrag hvor laksen er fredet er innsiget satt lik gytebestanden registrert ved gytefisktellingene, mens i vassdrag hvor det er gjort uttak i form av sportsfiske (Etneelva og Uskedalselva) eller stamfiske (Eidfjordvassdraget) er dette lagt til for beregningene av innsig.

I de aller fleste vassdragene er innsiget av villaks i perioden under den gjennomsnittlige fangsten som er rapportert i fra vassdragene i perioden 1969-1990, og tidvis betydelig lavere enn maksimumsfangsten og det innsiget en skal forvente ut i fra en 50 % beskatning ved de gjennomsnittlige fangstene. Et av unntakene er Etneelva, hvor i hvert fall innsiget i 2006 var på nivå med det en kan forvente ut i fra tidligere fangster. Fiske i Etneelva har vært godt organisert og trolig er fangststatistikken herfra nokså fullstendig. Også Uskedalselva skiller seg ut ved at innsiget i 2006 og 2007 var vesentlig høyere enn fangstene tidligere tilsier. Uskedalselva har ikke tidligere vært kjent for å ha noen laksebestand av betydning, noe som blant annet kan tilskrives den vannkjemiske situasjonen grunnet forsuring av vassdraget. På grunn av forsuringssituasjonen ble Uskedalselva kalket fra og med 2002. Undersøkelser har vist at ungfiskbestanden av laks tok seg kraftig opp etter kalkingen noe som trolig resulterte i en sterk smoltårsklasse i 2004 (Gabrielsen & Barlaup 2007). Dette var trolig bakgrunnen for den betydelige økning i fangstene av tert (smålaks) i 2005, og denne smoltårsklassen synes også å gjøre seg gjeldene i 2006 og 2007.

**Tabell 7.** Oversikt over høyeste registrerte fangst (maksimumsfangst) og gjennomsnittlig fangst for perioden 1969-1990, det tilsvarende innsiget som trengs for å kunne opprettholde en beskatningsprosent på 50 % av gjennomsnittlig fangst, og beregnet innsig av villaks ut i fra gytefisktellinger og eventuelt fangst eller stamfiske i perioden 2004-2007.

Vassdrag	Maksfangst laks 1969-90	Gj. sn. fangst 1969-90	Innsig gitt 50% beskatning	Beregnet innsig av villaks			
				2004	2005	2006	2007
Opo	197	108	216	46	-	-	-
Kinso*	27	14	28	-	54	-	-
Eidfjordvassdraget	352	131	261	78	109	-	31
Sima	-	-	-	-	25	9	3
Osa	-	-	-	-	-	12	2
Granvinselva	140	40	80	28	39	60	23
Øysteseelva	44	21	42	10	4	18	-
Steinsdalselva	217	60	120	24	35	70	30
Jondalselva	220	31	62	18	17	-	12
Strandadalselva	-	-	-	-	-	26	4
Øyreselva	-	-	-	6	26	7	4
Austrepollselva	-	-	-	-	-	0	0
Bondhuselva	-	-	-	5	-	9	1
Hattebergselva***	223	63	126	6	15	21	16
Omvikedalselva	45	24	48	9	13	57	11
Uskedalselva*	53	16	32	-	-	245	144
Etneelva	2431	957	1914	882	1212**	1980	1280**

\*Mangelfull fangststatistikk

\*\*Sørelva ikke inkludert i 2005, og underestimert i 2007.

\*\*\*Melselva inngår delvis i statistikken men ikke i gytefisktellingsene

I Eidfjordvassdraget, som har vært det største laksevassdraget i fjordsystemet etter Etneelva, ble det i tillegg til sportsfiske drevet et omfattende fiske med kjerr på elvestrekningene og garn i Eidfjordvatnet. Disse fangstene ble i liten grad rapportert. Ved å ta hensyn til denne fangsten beregnet Jensen et al. (2004) at et "normalt" innsig til vassdraget i perioden 1969-1979 var om lag 600-700 laks og om lag 2100 sjøaure, og dermed langt mer enn det som fremgår av da maksimumsfangst og gjennomsnittlig fangst fra den offisielle fangststatistikken i vassdraget. I tillegg er også antall villaks i innsiget i perioden 2004-2007 som vist i Tabell 7 noe overestimert, ettersom det også inngår noe rømt oppdrettslaks som er feilbestemt som villaks. På den annen side vil gytebestandene ofte bli noe underestimert ettersom en ikke klarer å observere all fisk under gytefisktellingsene. Et annet forhold som bidrar til å forsterke inntrykket av at bestandene i dag er redusert er at det tidligere ble drevet et omfattende sjøfiske i hav og fjordsystemene som beskattet bestanden før de kom frem til elva. Disse fangstene er ikke inkludert i fangststatistikken for vassdragene. Samlet tilsier dette at innsiget av villaks til de aller fleste vassdragene i Hardangerfjordsystemet er betydelig redusert i forhold til tidligere.

### *Sjøaure*

Maksimumsfangster og gjennomsnittsfangster, samt beregnet innsig for perioden 2004-2007 av sjøaure er vist i Tabell 8. Bildet er her noe mer sammensatt enn for laks, og gjør det vanskeligere å si noe om bestandsstørrelser tidligere. Granvinselva skiller seg ut med de klart høyeste fangstene av sjøaure. Her ble det tidligere rapportert fangster opp til 7845 aurer. I fangststatistikken er fangstene fra garnfiske i Granvinsvatnet inkludert i enkelte år, og trolig inngår det også en del innsjøaure fra Granvinsvatnet i de høyeste fangsttallene. Dette gjør det

vanskelig å si hvor stor sjøaurebestanden reelt sett har vært. Imidlertid ble det i 1974 innrapportert en fangst på 2836 aure med en gjennomsnittsvekt på 1,6 kg. Dette tyder på at sjøaurebestanden i Granvinsvassdraget i enkelte år har bestått av flere tusen gytefisk. Sammenliknes dette med resultatene for årene 2004-2007, da innsiget er beregnet å være fra om lag 600 til 950 fisk, viser dette at bestanden er kraftig redusert. Tilsvarende resultat framkommer for Eidfjordvassdraget. Ved å inkludere fangster fra kjerrfiske og garnfiske beregnet Jensen et al. (2004) at et normalt innsig av sjøaure til vassdraget i perioden 1969-1979 var på om lag 2100 sjøaure. Dette er betydelig høyere enn maksimumsfangsten på 502 sjøaure gitt i fangststatistikken for vassdraget og tilsier en betydelig underrapportering av fangstene. Sammenliknet med innsiget i årene 2004-2007 som var i størrelsesorden 350 til 470 fisk så tyder dette på at sjøaurebestanden er kraftig redusert også i dette vassdraget.

En betydelig underrapportering av sjøaurefangstene er trolig et generelt trekk som gjør det vanskelig å få gode tall på hvor store bestandene av sjøaure tidligere har vært.

Tabell 8. Oversikt over maksimumsfangst og gjennomsnittlig fangst for perioden 1969-1990, innsiget som må til for å opprettholde 50 % beskatning, og beregnet innsig av sjøaure ut i fra gytefisktellinger og eventuelt fangst i perioden 2004-2007.

Vassdrag	Maksfangst sjøaure 1969-07	Gj.snitt fangst 1969-07	Innsig gitt 50% beskatning	Beregnet innsig av sjøaure			
				2004	2005	2006	2007
Opo	218	92	184	156	-	-	-
Kinso*	170	46	92	-	64	-	-
Eidfjordvassdraget	502	221	442	469	371	-	351
Sima*	50	12	24	-	87	175	161
Osa	-	-	-	-	-	24***	40
Granvinselva	7845	1340	2680	629	601	944	656
Øysteseelva	150	30	60	49	28	46	-
Steinsdalselva	179	48	96	231	179	323	170
Jondalselva*	80	23	46	60	92	-	81
Strandadalselva	-	-	-	-	-	87	85
Øyreselva	-	-	-	26	23	25	38
Austrepollelva	-	-	-	-	-	6	8
Bondhuselva	280	94	188	82	-	97	56
Hattebergselva**	700	120	240	64	89	55	59
Omvikedalselva*	182	76	152	372	449	237	165
Uskedalselva*	1106	229	458	-	-	385	253
Etneelva	1452	584	1168	2000	-	1152	-

\*Fangststatistikk mangler for deler av perioden

\*\*Melselva inngår delvis i fangststatistikken med ikke i gytefisktellinger

\*\*\*Austdøla ikke inkludert

### *Eggtetthet og gytebestandsmål*

Et annet aktuelt spørsmål er hvor stor gytebestanden er i forhold til det forventete produksjonspotensialet for ungfisk i vassdragene. Overlevelse hos ungfiskstadiene hos laksefisk er i stor grad regulerte av tetthetsavhengige faktorer (Milner et al. 2002). Høy gytebestand vil ofte resultere i stor konkurranse om leveområdene for ungfisk og følgelig at en mindre andel lever opp, mens lave tettheter fører til liten konkurranse og høyere overlevelse (Gee et al. 1978, Solomon 1985, Elliott 1994, Chaput et al. 1998, Jonnson et al. 1998). Den tetthetsavhengige bestandsreguleringen gir et forløp der antall produserte smolt generelt øker med antall gyte egg, og etter hvert avtar ved økende eggtetthet. Når antallet

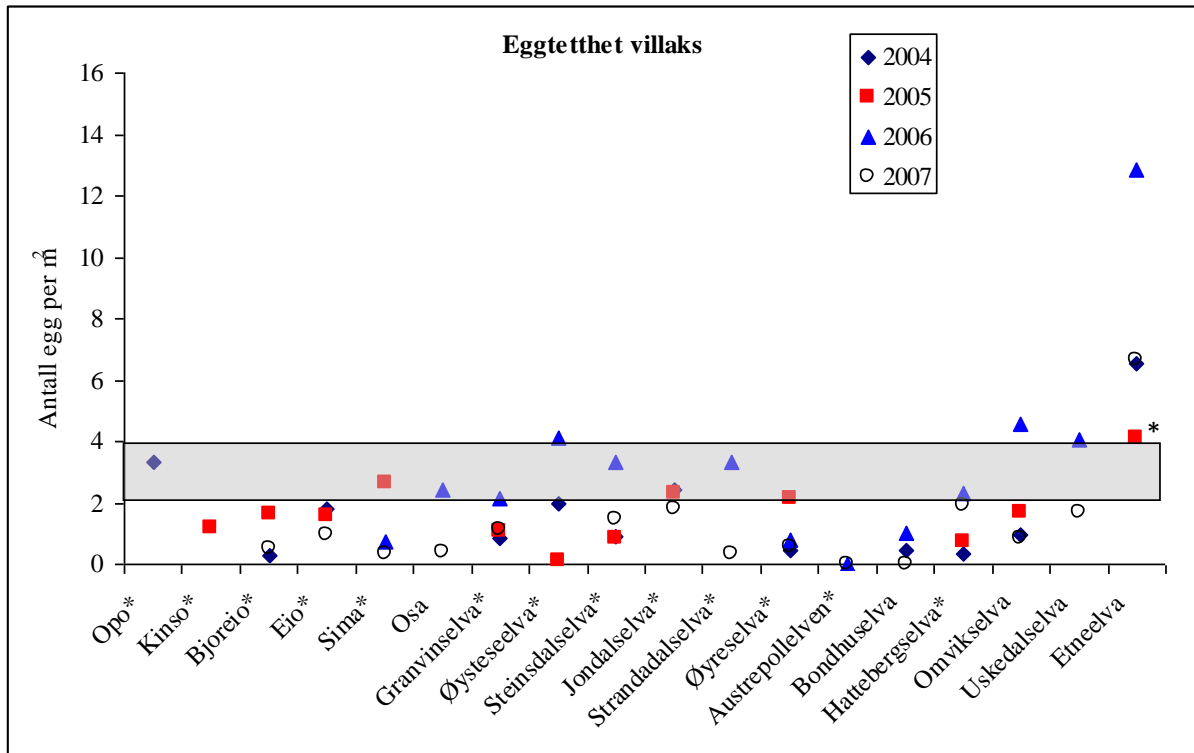
gytte egg har nådd elvas bæreevne for smolt vil smoltproduksjonen ikke bli større til tross for en ytterligere økning i antallet gyttede egg (Solomon 1985, Chaput et al. 1998, Jonsson et al. 1998).

Gjennom internasjonale avtaler i Den internasjonale laksevernorganisasjonen (NASCO) har Norge forpliktet seg til å følge en "føre-var" tilnærming i lakseforvaltningen. Som et ledd i dette vil en nå innføre gytebestandsmål som skal sikre at laksebestandene ikke beskattes over "bevaringsgrensen", som av den internasjonale laksevernorganisasjonen NASCO defineres som "det uønskede gytebestandsnivået hvor rekrutteringen begynner å avta signifikant". Med andre ord er gytebestandsmålet det nivået der gytebestanden begynner å bli så lav at det er begrensende for ungfiskproduksjonen. Det er imidlertid vanskelig i praksis å beregne hvor mye gytefisk som skal til før en når denne grensen i ulike vassdrag, og det arbeides fortsatt med å utarbeide metoder for å fastsette gytebestandsmål. I en gjennomgang av bestandsstatus i vassdrag i Hordaland og Sogn og Fjordane, satte Sægrov (2001) gytebestandsmål ut i fra en skjønsmessig vurdering av produksjonspotensialet for de ulike vassdragene. For de fleste aktuelle vassdragene i Hardangerfjorden ble gytebestandsmålene satt til 3 egg per m<sup>2</sup> for både laks og aure. I den senere tid har Hindar et al. (2007) utarbeidet et "førstegenerasjons" gytebestandsmål for laks i 80 norske laksevassdrag ved å bruke tilgjengelig kunnskap om gytebestand og rekrutter fra vassdrag der dette er kjent. De foreslo å gi vassdragsspesifikke gytebestandsmål i ulike kategorier fra 2-6 egg per m<sup>2</sup> avhengig av ulike karakteristikk av vassdraget. Etneelva og Eidfjordvassdraget var to av vassdragene som var med i denne sammenstillingen, og det ble foreslått å sette gytebestandsmål for disse to vassdragene til 4 egg per m<sup>2</sup> (tilsvarende 311 holaks) i Etneelva og 2 egg per m<sup>2</sup> (tilsvarende 71 holaks) i Eio/Bjoreio. Etter hvert som en får mer kunnskap om produksjonsforhold i ulike laksevassdrag vil trolig gytebestandsmålene bli endret, og etter hvert vil det også bli utarbeidet for flere vassdrag. I utgangspunktet kan vi anta at en eggtetthet på 2-4 egg per m<sup>2</sup> vil være innenfor de aktuelle gytebestandsmålene for de fleste aktuelle vassdragene i Hardangerregionen, og altså nær det nivået skal til for at elva vil være "fullrekruttert" av ungfisk.

Basert på resultatene fra gytefisktellingerne har vi beregnet hvor mange lakseeegg som anslagsvis har vært gytt per arealenhet i de ulike vassdragene i undersøkelsesperioden (Figur 11). Eggtettheten er beregnet for elvene eller vassdragsavsnittene som er undersøkt ved dykking de aktuelle årene. I de aller fleste vassdragene var eggtettheten rundt eller under det antatte nivået for gytebestandsmålet, og på et nivå der en kan forvente at gytebestanden er begrensende for ungfiskproduksjonen. En må samtidig ta i betraktning at de aktuelle vassdragene er stengt for laksefiske, og at gytebestanden derfor representerer det totale innsiget uten noen beskatning i form av sportsfiske i elva. Unntaket er Etneelva hvor eggtetthet hvor eggtettheten er over gytebestandsmålet i hele perioden. Dette til tross for at det i årene 2004-2007 ble tatt ut henholdsvis 478, 967, 1022 og 880 laks ved sportsfiske før gytefisktellingerne ble gjennomført, og at gytefisktellingerne i 2005 ble gjennomført sent og antall gytefisk dette året trolig ble kraftig underestimert.

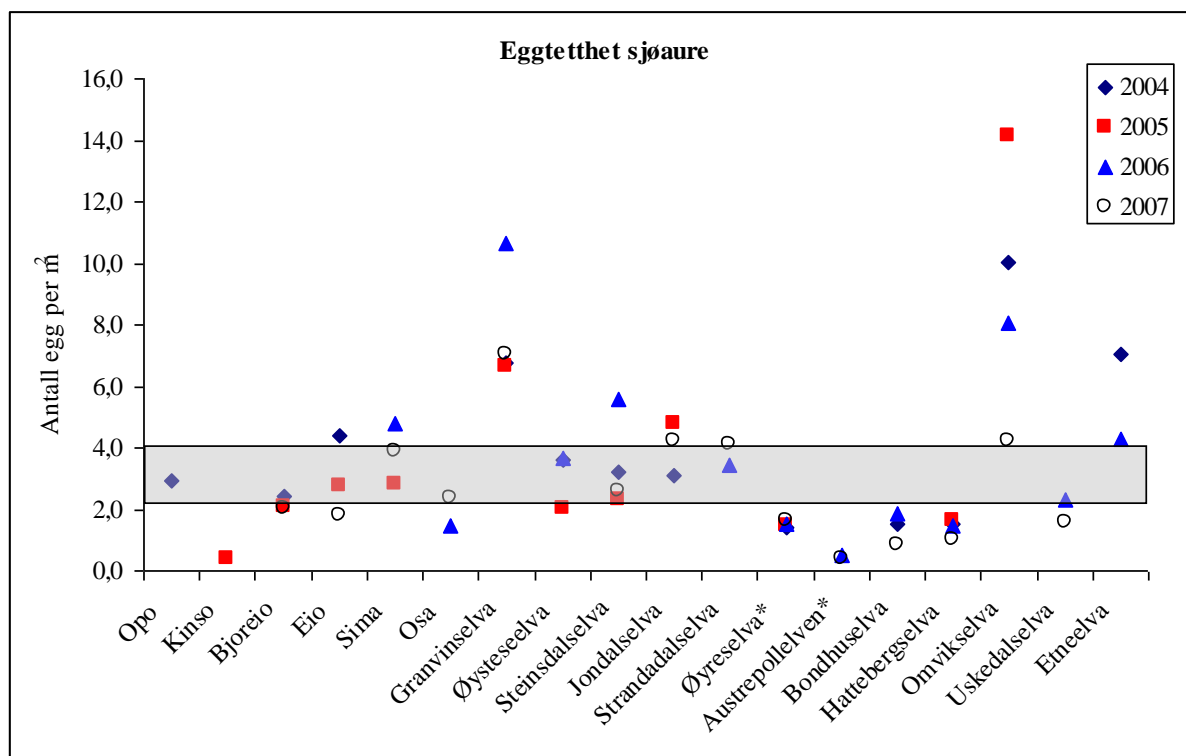
Ved vurdering av størrelsen på gytebestandene må en også ta i betraktning at gytefisktellingerne generelt vil medføre en overestimert av villaks og en tilsvarende underestimert av oppdrettslaks siden det ikke alltid vil være mulig å identifisere all oppdrettslaks ut i fra morfologiske kjennetegn. Dette forholdet forsterker derfor inntrykket av at gytebestanden av villaks er lavt og i mange tilfeller under det antatte gytebestandsmålet.





Figur 11. Egg tettheter for laks beregnet ut i fra gytefisktellningene i de ulike årene. Den grå sonen angir nivået for gytebestandsmål mellom 2 og 4 egg per m<sup>2</sup>. \*I 2005 ble gytefisktellningene i Etneelva utført sent og trolig etter at en del av gytefisk hadde forlatt elva, noe som trolig medførte at egg tettheten er noe underestimert dette året.

Tilsvarende egg tettheter beregnet for sjøaure er gitt i Figur 12. Generelt er nivået for egg tetthet noe høyere enn for laks, men nivåene varierer mye mellom vassdragen. En vet mindre om sammenhengen mellom egg tetthet og ungfiskproduksjon hos sjøaure, men trolig er gytebestadnene i mange av vassdragene så lave at det vil være begrensende for ungfiskproduksjonen. Omikedalselva og Granvinselva skiller seg ut ved de høyeste egg tetthetene, men en ser også her at nivåene varierer mye mellom år i undersøkelsesperioden.



Figur 12. Eggtettheter for sjøaure beregnet ut i fra gytefisktellningene i de ulike årene. Eggtettheter for Etneelva i 2005 og 2007, samt fra Bjoreio i 2006 er ikke tatt med ettersom gytefisktellningene ble gjennomført etter gytetiden for sjøauren.

## Litteratur

Buck, R.J.G. & D.W. Hay. 1984. The relation between stock size and progeny of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in a Scottish stream. *Journal of Fish Biology* 23: 1-11.

Chaput, G., J. Allard, F. Caron, J.B. Dempson, C.C. Mullins & M.F. O'Connell. 1998. River-specific target requirements for Atlantic salmon (*Salmo salar*) based on a generalized smolt production model. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 55: 246-261.

Elliott, J. M. 1994. *Quantitative ecology and the brown trout*. Oxford University Press Inc., New York. 286 s.

Fleming, I.A., Jonsson, B., Gross, M.R. & Lamberg, A. 1996. An experimental study of the reproductive behaviour and success of farmed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Applied Ecology* 33: 893-905.

Gabrielsen, S.-E. & Barlaup, B. 2007. Uskedalselva: Fisk. I: Kalking i vann og vassdrag – effektkontroll av større prosjekter 2006. Direktoratet for naturforvaltning, Notat 2007-2.

Gee, A.S., N.J. Milner. & R.J. Hemsworth. 1978. The effect of density on mortality in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Animal Ecology* 47: 497-505.

Hellen, B.A., Kålås, S. & Sægrov, H. 2004. Gytefiskteljing på Vestlandet i perioden 1996 til 2003. Rådgivende Biologer AS, rapport nr 763, 21 s.

Hindar, K., Diserud, O., Fiske, P., Forseth, T., Jensen A.J., Ugedal, O., Jonsson, N., Sloreid, S.-E., Arnekleiv, J.V., Saltveit, S.J., Sægrov, H. & Sættem, L.M. 2007. Gytebestandsmål for laksebestander i Norge. NINA Rapport 226. 78 s.

Jensen, A.J., Johnsen, B.O., Berger, H.M. & Lamberg, A. 2004. Fiskebiologiske undersøkelser i Eidfjordvassdraget, Hordaland fylke 2003. NINA – oppdragsmelding 810. 34 s.

Jonsson, N., B. Jonsson & L.P. Hansen. 1998. The relative role of density-dependent and density-independent survival in the life cycle of Atlantic salmon *Salmo salar*. *Journal of Animal Ecology* 67: 751-762.

Lehmann, G., T.Wiers & S.E. Gabrielsen. 2008. Uttak av rømt oppdrettslaks. Rapport fra LFI-Unifob. I trykk.

Lura, H. & Sægrov, H. 1991. Documentation of successful spawning of escaped farmed female Atlantic salmon, *Salmo salar*, in Norwegian rivers. *Aquaculture* 98: 151-159.

Milner, N.J., Elliott, J.M., Armstrong, J.D., Gardiner, R., Welton, J.S., & Ladle, M. 2002. The natural control of salmon and trout populations in streams. *Fisheries Research* 62: 111-125.

Skaala, Ø., Wennevik, V. & Glover, K.A. 2006. Evidence of temporal genetic change in wild Atlantic salmon, *Salmo salar* L., populations affected by farm escapees. *ICES Journal of marine science* 63: 1224-1233.

Solomon, D.J. 1985. Salmon stock and recruitment, and stock enhancement. *Journal of Fish Biology (Suppl. A)*: 45-57.

Sægrov, H. Laksebestandene i Hordaland. I: Elvevis vurdering av bestandsstatus og årsaker til bestandsutviklingen av laks i Hordaland og Sogn og Fjordane. Direktoratet for Naturforvaltning. Utredning 2001-2.

Sættem, L.M. 1995. Gytebestander av laks og sjøaure. En sammenstilling av registreringer fra ti vassdrag i Sogn og Fjordane fra 1960 – 94. Utredning fra DN 1995 – 7, 107 s.