

## Undersøkelser av samsvar mellom observert andel rømt laks i gyteområder og genetiske effekter på parr i etterfølgende generasjon

Øystein Skaala, Kevin Glover, Anne Grete Sørvik, Terje Svåsand og Maria Quintela



Illustrasjon: J. Ringstad.



HAVFORSKNINGSINSTITUTTET  
INSTITUTE OF MARINE RESEARCH



**Undersøkelser av samsvar mellom observert andel rømt  
laks i gyteområder og genetiske effekter på parr i  
etterfølgende generasjon**

Øystein Skaala, Kevin Glover, Anne Grete Sørvik,  
Terje Svåsand og Maria Quintela



## Innhold

<b>Undersøkelser av samsvar mellom observert andel rømt laks i gyteområder og genetiske effekter i etterfølgende generasjon .....</b>	<b>3</b>
<b>Bakgrunn.....</b>	<b>3</b>
<b>A. Eksisterende undersøkelser av sammenheng mellom andel rømt laks i gytebestand og observerte genetiske forandringer i populasjonen .....</b>	<b>4</b>
<i>Imsaprojektet</i> .....	4
<i>Burrishooleprosjektet</i> .....	5
<i>Kohortstudien i Guddalselva</i> .....	5
<i>Langtidsundersøkelser av genetisk stabilitet i villakspopulasjoner</i> .....	7
<b>B. Spesifikke kohortundersøkelser .....</b>	<b>8</b>
<b>En analyse av Eidselva, Etneelva, Oselva og Vestre Jakobselva.....</b>	<b>8</b>
<i>Materiale og metode</i> .....	8
<i>Resultater</i> .....	9
<i>Analyse av vill og rømt gytefisk</i> .....	9
<i>Eidselva</i> .....	10
<i>Oselva</i> .....	12
<i>Vestre Jakobselva</i> .....	14
<i>Etneelva</i> .....	14
<b>Oppsummering og konklusjoner.....</b>	<b>16</b>
<b>Referanser .....</b>	<b>18</b>

# Undersøkelser av samsvar mellom observert andel rømt laks i gyteområder og genetiske effekter i etterfølgende generasjon

Øystein Skaala, Kevin Glover, Anne Grete Sørvik, Terje Svåsand og Maria Quintela

## Bakgrunn

Denne rapporten er et svar på en bestilling fra Fiskeri- og kystdepartementet vedrørende en vurdering av sammenhengen mellom observert andel rømt laks i gytepopulasjon og genetisk påvirkning i etterfølgende generasjon.

Undersøkelsene av andel rømt oppdrettslaks i vassdrag ble initiert av Norsk institutt for naturforskning (NINA) på slutten av 1980-tallet, med finansiering fra flere ulike kilder, og har frem til i dag representert en nasjonal overvåking av rømt laks i villaksbestander. Nyere utredninger (Skilbrei m.fl. 2011; Taranger m.fl. 2010) har imidlertid vist at for å kunne svare opp forvaltningens kunnskapsbehov med nødvendig presisjon, er det nødvendig å kvalitetssikre og oppskalere overvåkingen av rømt laks i villaksbestandene og de reelle genetiske forandringene forårsaket av rømt laks. I forslag til overvåkingsprogram og indikatorer fra Havforskningsinstituttet og Veterinærinstituttet, med innspill fra Fiskeridirektoratet, Mattilsynet og NINA (Taranger m.fl. 2012), foreslår man å benytte andel rømt laks i gytebestandene som en varslingsindikator, og at de reelle genetiske forandringene må evalueres ved DNA-analyser i bestandene. Undersøkelser av samsvar mellom observert andel rømt laks og reell forandring i etterfølgende generasjon vil gi nøyaktigheten for varslingsindikatoren.

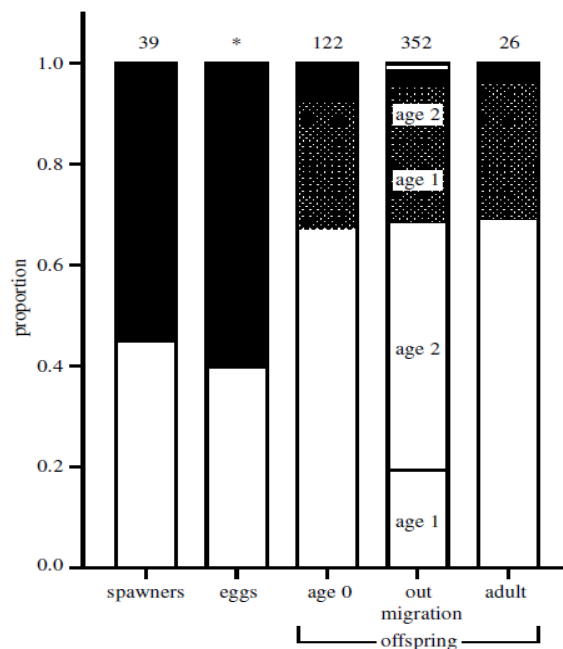
Det kan være mange årsaker til at andel rømt oppdrettslaks i en gytebestand ikke reflekterer de reelle genetiske forandringene i etterfølgende generasjon, og disse omfatter både spørsmål knyttet til representativitet i utvalg av gytefisk, kjønnsmodning, oppdrettslaksens evne til å forplante seg og dessuten naturlig seleksjon på avkom fra en eventuell gyting. Alle disse faktorene er identifisert og blitt undersøkt enkeltvis gjennom ulike forskningsprosjekt over tid. Undersøkelser som direkte tester sammenheng mellom andel rømlinger i gytebestand og genetisk forandring i yngel året etter fins det få av, den mest detaljerte ble gjennomført i Imsavassdraget (Fleming m.fl. 2000).

Vi vil starte med en gjennomgang av tidligere publiserte arbeider som belyser spørsmålet, men siden disse ikke gir et utfyllende svar, har vi også valgt å gjennomføre nye undersøkelser i lokaliteter der man har detaljert informasjon om andel rømt oppdrettslaks og fortrinnsvis også fysiske prøver av gytefisken.

## A. Eksisterende undersøkelser av sammenheng mellom andel rømt laks i gytebestand og observerte genetiske forandringer i populasjonen

### *Imsaprojektet*

I dette prosjektet ble 22 oppdrettslaks og 17 villaks med genetiske (allozym og mitokondrielt DNA) merker satt ut i Imsa i Rogaland i 1993, det vil si at andel villaks og oppdrettslaks var henholdsvis 44 % og 56 %. Året etter ble det gjennomført elektrofiske og 0+ yngel samlet inn i september (n=55) og i oktober (n=67). Av disse hadde 65,1 % ville foreldre som opphav, 25 % var hybrider mens ca. 10 % var avkom av oppdrettslaks (Figur 1). Andelen oppdrettslaks var altså betydelig lavere i avkommet enn den observerte andelen i gytebestanden. Denne forandringen forklares med ulik gytesuksess hos rømt og vill laks. I gjennomsnitt hadde oppdrettslaksen 19 % suksess fra gyting til tidspunkt for innsamling av 0+ yngel sammenlignet med villaksen. Når man korrigererte for ulik gytesuksess, estimerte man overlevelsen hos 0+ fra oppdrettsforeldre til 70 % av villaksens overlevelse. I tilgrensende karforsøk viste man at særlig rømt hannlaks hadde sterkt redusert gytesuksess, kun 24 % sammenlignet med villaks, mens den rømte hunnlaksen hadde 34 % gytesuksess sammenlignet med vill hunnlaks.



**Figur 1:** Forandringer i sammensetningen av laksepopulasjonen i Imsa etter utsatt villaks og oppdrettslaks. Tallene over søylene angir enten total populasjon (gytere og adult avkom) eller prøvestørrelse undersøkt i hver aldersgruppe (0+ og utvandrende smolt.) Svart søyle: oppdrett, hvit søyle: villaks, skravert søyle: hybrider. (Etter Fleming m.fl. 2000).

I registreringer av rømt laks i gyteområdene til villaks, blir vanligvis all rømt laks man kan få tak i, avlivet. I praksis medfører dette at de gytefiskene man har prøver av, er fisk som ikke har gytt. En unik side ved Imsaforsøket var at man lot et kjent antall vill og rømt laks gyte for å kvantifisere påvirkningen på etterfølgende generasjon. Man fant ikke klare bevis for ulik

overlevelse i ferskvann etter det tidlige yngelstadiet, dvs. fra parr til smolt. Imidlertid ble det registrert sterk næringskonkurrans, og en reduksjon på ca. 30 % i smoltproduksjonen fra denne årsklassen sammenlignet med forventet produksjon. Fra smoltstadiet til kjønnsmodning fant man ingen forskjell i overlevelse. *Undersøkelsen dokumenterer at observert andel oppdrettslaks i gytebestanden vil være høyere enn den andelen man observerer i 0+ yngel året etter*, delvis på grunn av ulik gytesuksess hos rømt og vill laks og dels på grunn av ulik overlevelse hos avkom av oppdrettslaks og villaks gjennom tidlig livsfase hos 0+ yngel.

### ***Burrishooleprosjektet***

En annen undersøkelse av forandring i andel rømt laks i kohorter, er undersøkelsen i Burrishoole i Irland (McGinnity 1997; 2003). Her var forsøksoppsettet noe ulikt Imsa fordi man ønsket primært å undersøke eventuelle genetiske forskjeller i overlevelse fra øyerogn til kjønnsmodning, og derfor ekskluderte gytesuksessen i oppsettet. Et kjent antall øyerogn fra oppdrettslaks og villaks ble plantet ut ovenfor fiskefellene, og en detaljert sampling gjorde det mulig å sammenligne overlevelse hos avkom av oppdrettslaks og hos hybrider sammenlignet med villaksens avkom, fra øyerogn til smolt, og deretter fra smolt til gyting. Resultatene viste at oppdrettslaksens overlevelse fra øyerogn til smolt varierte fra 0,41-0,76 sammenlignet med villaksen, og fra smolt til gyting var oppdrettslaksens overlevelse 0,07 sammenlignet med villaksen (Tabell 1). Hybridene sin overlevelse varierte mye, men lå ofte mellom villaksens og oppdrettslaksens overlevelse. Også i dette studiet påviste man en klar reduksjon i smoltproduksjonen i samtlige kohorter. *Undersøkelsen viser at andel oppdrettslaks avtar over aldersgrupper gjennom kohorter.*

**Tabell 1:** Resultatene fra Burrishoole-prosjektet, hvor relativ overlevelse hos hybrider og avkom av oppdrettslaks er sammenlignet med avkom av villaks, fra øyerogn til smolt og fra smolt til gytefisk. Kolonne merket a) refererer til overlevelse hvor man antar at fortrenget vill parr har samme overlevelse som gjenværende parr, dvs. at lokaliteten ikke har nådd produksjonskapasitet, men at ledig habitat er tilgjengelig; b) overlevelse hvor man antar at det ikke fins ledig habitat. (Etter McGinnity m.fl. 2003).

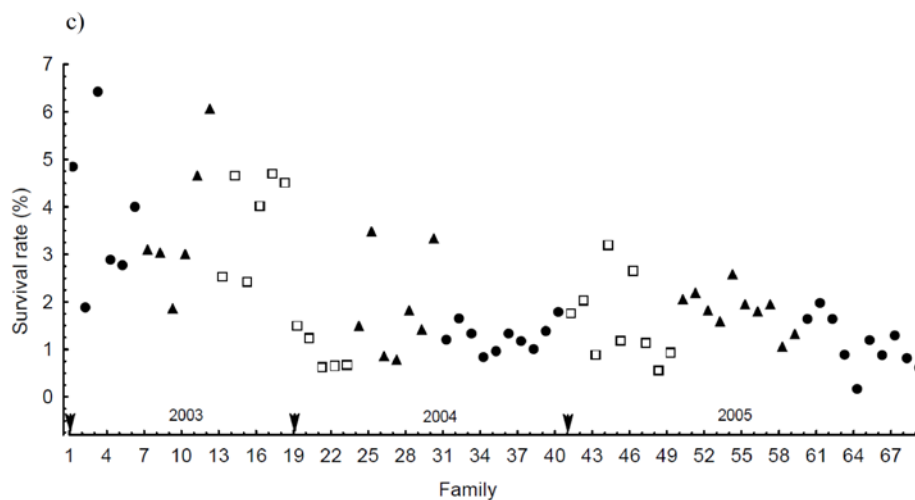
Gruppe	Befruktning - øyerogn	Øyerogn – smolt <sup>a</sup>	Øyerogn – smolt <sup>b</sup>	Smolt - gytefisk	Livstids suksess <sup>a</sup>	Livstids suksess <sup>b</sup>
Vill	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
BC1V	1,0	0,89	1,0	1,0	0,89	1,0
F1HyV	1,0	0,73	1,0	0,58	0,42	0,58
F1HyF	0,87	0,50	0,63	0,61	0,27	0,33
F2Hy	0,34	1,0	1,84	n.a.	(0,34)	(0,63)
BC1F	1,0	0,79	1,59	0,39	0,31	0,62
Oppdrett	0,79	0,41	0,76	0,07	0,02	0,04

### ***Kohortstudien i Guddalselva***

For å undersøke overlevelsen hos avkom av oppdrettslaks i naturen og hvilke faktorer som påvirker denne, og dermed har betydning for de genetiske forandringene i etterfølgende

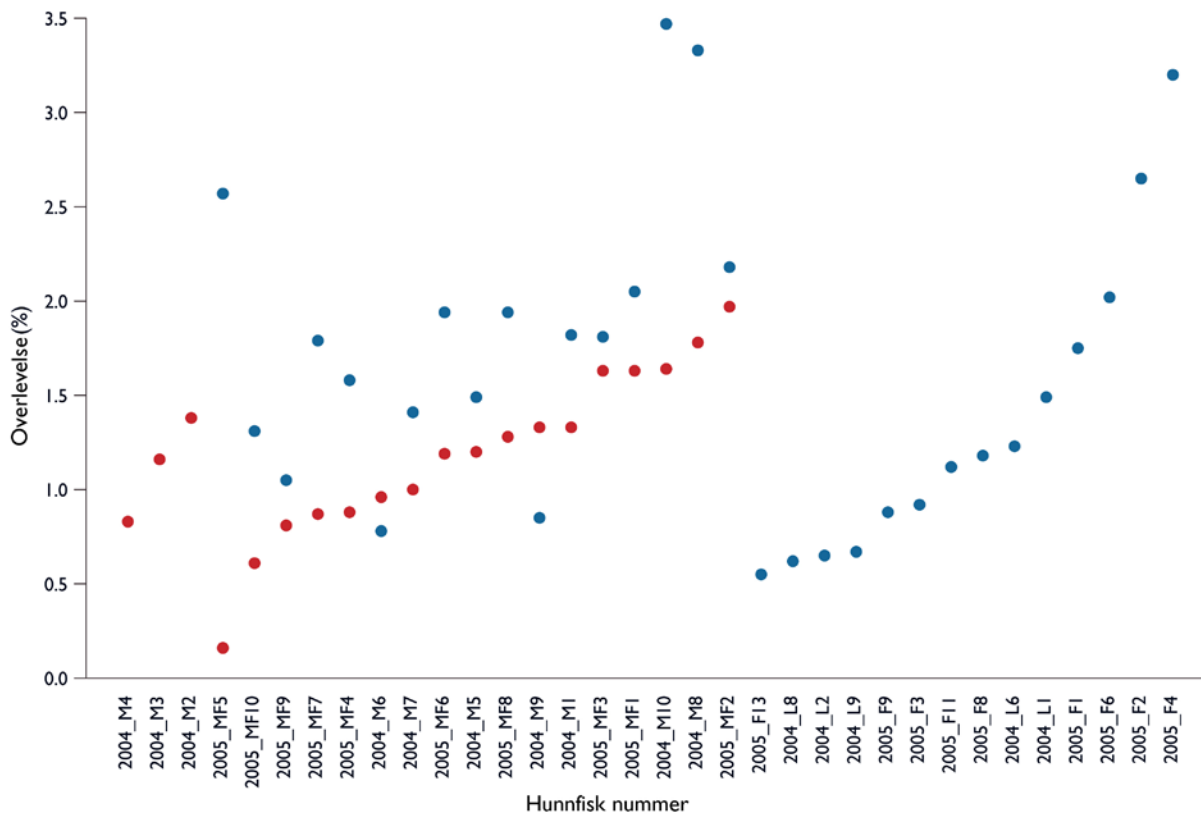


generasjon, er det ved Havforskningsinstituttets feltstasjon i Guddalselva gjennomført en undersøkelse av overlevelse hos avkom av oppdrettslaks, villaks og av hybrider fra øyerogn til smolt hos tre kohorter (årsklasser) (Skaala m.fl. 2012). Undersøkelsen kvantifiserer variasjonen mellom familier i egenskaper som overlevelse, vekst, alder, diettvalg og utvandringstidspunkt for å forsøke å forstå hvilke faktorer som er viktige for oppdrettslaksens overlevelse i naturen. Denne undersøkelsen er derfor mer detaljert enn de to tidligere (Imsa og Burrishoole), ved at man i Guddalselva undersøkte overlevelsen og andre livshistorieparametre på familienivå. Resultatene viste at alle 69 familier i de tre kohortene var representert i smoltutvandringen (Figur 2). Spredningen i overlevelse fra øyerogn til smolt var imidlertid særlig stor hos oppdrettslaksen, der overlevelsen varierte fra 0,17 til 6,4 %.



**Figur 2:** Overlevelse hos årsklassene 2003, 2004 og 2005 fra øyerogn til smolt hos 69 familiegrupper av laks i Guddalselven. Svart punkt: oppdrettslaks, trekant: hybrider, åpen firkant: villaks. (Årsklassene separert med invers-trekant). (Fra Skaala m.fl. 2012).

På grunn av den store spredningen i overlevelse mellom de 69 familiene, ble en statistisk modell utviklet for å beskrive variasjonen og forklare betydningen av de ulike parametrene. Eggvekt viste seg å ha stor betydning for den observerte variasjonen i overlevelse. Eggstørrelse varierer mellom populasjoner og med størrelse på hunnfisken, og er påvirket av både arv og miljø. Når det ble tatt hensyn til denne miljøeffekten, slik at man kun målte de reelle genetiske forskjellene, viste modellen at både villaks og hybrider hadde signifikant høyere overlevelse enn oppdrettslaksen. Betydningen av arv for overlevelse i naturen ble også demonstrert når halvsvæskengrupper med oppdrettsmor ble befruktet med oppdrettshann og alternativt med vill hann (Figur 3). I 15 av de 17 parvise sammenligningene hvor samme oppdrettsmor ble benyttet, ga vill hann høyere overlevelse for familien. Arbeidet dokumenterer at avkom av oppdrettslaks har lavere overlevelse enn villaks og at eggstørrelse har stor betydning for overlevelse. Siden eggstørrelse varierer med størrelse på hunnfisken, mellom ville populasjoner og mellom grupper av oppdrettslaks, vil disse forholdene kunne bidra til en svak korrelasjon mellom observert andel rømt oppdrettslaks i gytebestander og observert forandring i F1-generasjonen, og vansker med å forutsi omfanget av innkryssing basert på andel rømt laks i gytebestanden.



**Figur 3:** Overlevelse hos familiegrupper utplantet i 2004 og 2005, med parvis sammenligning av halvøsken-grupper hvor alle har oppdrettsmor og enten vill far eller oppdrettsfar. Rød sirkel: oppdrettsfar, blå sirkel: vill far.

### Langtidsundersøkelser av genetisk stabilitet i villakspopulasjoner

En omfattende undersøkelse av 21 laksebestander langs norskekysten (Glover m.fl. 2012; Glover m.fl. 2013) illustrerer også indirekte en lav til moderat sammenheng mellom observert andel rømt laks i gytebestander over tid og observerte genetiske forandringer i populasjonene i samme tidsrom. Undersøkelsene sammenligner DNA-profiler basert på historisk materiale fra bestandene og nyinnsamlet materiale fra samme bestander, og er derfor ikke en stringent undersøkelse av genetiske forandringer innen en årsklasse. Undersøkelsene er imidlertid mer robuste enn en kohortundersøkelse da ikke er beheftet med en del av samplingsproblemene i undersøkelser innenfor en årsklasse, men viser kumulative forandringer over generasjoner. I seks av bestandene ble det påvist tydelige forandringer, fem av disse har man dokumentert periodevis mye rømt oppdrettsfisk, og det er sannsynliggjort at årsaken til forandring er rømt oppdrettslaks. I den sjette (Berbyelva) er årsakene mer uklare, her mangler også mange år med registrering av rømt oppdrettslaks. I det siste av disse arbeidene (Glover m.fl. 2013) har det også lyktes, for aller første gang, å kvantifisere prosentvis introgresjon av genmateriale fra oppdrettslaks i de ville bestandene. *Undersøkelsene konkluderer med at det er en svak til moderat korrelasjon mellom observert andel rømt oppdrettslaks i gytebestand og observerte genetiske forandringer i populasjonen.*

## **B. Spesifikke kohortundersøkelser**

NINA gjennomførte i 2012 en undersøkelse av rømt og vill gytefisk i Namsenvassdraget, som er Norges tredje største laksebestand (Karlson m.fl. 2012). Som forventet fant man store genetiske forskjeller mellom vill og rømt gytefisk. Man fant her sterkere signatur av oppdrettsmateriale i 0+ parr i 2011 enn i gytefiskbestanden i 2010, men at grad av innkryssing varierte betydelig mellom årsklasser. I denne undersøkelsen fant man imidlertid ingen samvariasjon mellom andel rømt laks i gytebestanden og genetisk forandring i etterfølgende generasjon, men det understrekes at lave prøvestørrelser av gytefisk medførte redusert presisjon.

### **En analyse av Eidselva, Etneelva, Oselva og Vestre Jakobselva**

Spørsmålet man ønsker å svare på er i hvilken grad det er samsvar mellom mengden og andelen rømt fisk observert i en gytebestand et år og DNA profilen hos etterfølgende generasjon.

Det er vist at gytesuksess hos rømt laks varierer mellom kjønn, der særlig suksessen til hannfisk er lav og konkurranserelatert (Fleming m.fl. 1996; 2000). Det medfører at gytesuksessen hos oppdrettslaks varierer sterkt, bl.a. avhengig av mengden vill gytefisk. I tillegg vet man at en del av oppdrettslaksen som vandrer opp i elv er umoden fisk, og at data på kjønnsmodning hos den oppdrettslaksen som blir fanget i elv ikke alltid er kvalitetssikret. Det betyr at man ikke kan forvente en klar sammenheng mellom observert andel rømt laks i gytebestand og reell genetisk påvirkning i etterfølgende generasjon. En kompliserende faktor er at de voksne fiskene som man har prøver av, vanligvis er fisk som er avlivet før de har gytt, og derfor ikke bidrar til neste generasjon. Gytesuksessen og den reelle genetiske påvirkningen vil variere mye fra år til år, fra vassdrag til vassdrag og sannsynligvis mellom ulike lokaliteter innenfor vassdrag. Yngel av laks foretrekker strømsterke habitater og som 0+ er de små (rundt 50 mm), og fangbarheten varierer med størrelse, der 0+ har svært lav fangbarhet. Samtidig har avkom av oppdrettslaks litt raskere tilvekst enn villaks, også i naturen, noe som vil medføre ulik fangbarhet på avkom av rømt og vill laks. Temperatur virker også inn på fangbarheten, og ved lav vanntemperatur utover høsten og gjennom vinteren går fangbarheten for både 0+ og eldre fisk ytterligere ned. Det betyr at med de innsamlingsmetodene vi har til disposisjon, i hovedsak elektrosjokking, er det vanskelig å samle inn representative prøver av 0+. I en kohortanalyse må man videre forutsette at prøvene av rømt og vill gytefisk som er avlivet er representativ for gjenværende vill og rømt laks i vassdraget.

### ***Materiale og metode***

For å gjennomføre en spesifikk kohortstudie der man sammenligner andel rømt oppdrettslaks med den reelle genetiske påvirkningen i etterfølgende generasjon, ble det foretatt en gjennomgang av hva som fantes av tilgjengelig materiale hos NINA, Uni-Miljø og Rådgivende Biologer, der man vurderte i hvilke vassdrag og i hvilke år man har hatt en relativ høy andel rømt laks i gytebestanden, og hvor det forelå materiale av parr som korresponderte

med disse lokalitetene. Det forelå lite materiale av foreldre og avkom som var egnet for en direkte sammenligning, og det ble derfor designet og satt i gang innsamling fra fire forskjellige populasjoner: Etneelva, Oselva (Hordaland), Eidselva (Sogn og Fjordane) samt Vestre Jakobselv (Finnmark) (Tabell 2).

**Tabell 2:** Oversikt over populasjon, gyteår, andel rømt laks i gytebestand og antall fisk genotypet for sammenligning av andel rømt laks i gytebestand og genetisk forandring etterfølgende generasjon (F1).

Populasjon - år % oppdrett	Gytefisk genotypet	Aldersgrupper av F1-generasjonen (n)			
		0+	1+	2+	3+
Eidselva 2010 30	Vill 92 Oppdrett 43	22.11.2011 (27)	-	-	-
Etneelva 2008 56	Vill 47		16.03.2011 (72)	17.10.2011 (23)	-
Oselva 2009 55	Vill 57 Oppdrett 63	15.10.2010 (52)	16.10.2011 (50)	26.04.2012 (62)	-
V.Jakobselva 2007 19	Vill 33	-	-	-	Des-2011 (45)

Gytefiskmaterialet er klassifisert som henholdsvis vill eller rømt fisk basert på etablerte kriterier som morfologi, deformiteter og vekstmønster på skjell. Parrmaterialet ble aldersbestemt, og biologiske data som lengde og vekt ble registrert. Det ble ekstrahert DNA fra et utvalg av parrmaterialet, og dette ble sammen med materialet av gytefisk genotypet med et standardpanel på 21 mikrosatellittmarkører. Materialet ble deretter analysert med standard populasjonsgenetiske tester som viser genetisk variasjon innenfor og mellom grupper, målt som  $F_{ST}$ . Programmet GeneClass 2.0 ble benyttet for genetisk assignment (Cornuet m.fl. 1999).

Siden den genetiske sammenhengen mellom populasjoner måles ved populasjonenes genotyper i et antall (n) loci med m uavhengig kombinasjon av alleler, kan hver populasjon være representert i et multidimensjonalt rom som består av m ortogonale akser, og dermed fører til en representasjon av populasjoner som en sky av punkter i et metrisk rom. For å presentere disse dataene i et forståelig format, og for bedre å forstå strukturen i de undersøkte populasjonene, utførte vi en multivariat analyse ved hjelp av R-pakken AdeGenet (Jombart 2008). Det ble også kjørt analyser med programmet STRUCTURE (Pritchard m.fl. 2000; Falush m.fl. 2003; Hubisz m.fl. 2009) for å identifisere genetiske grupper.

## Resultater

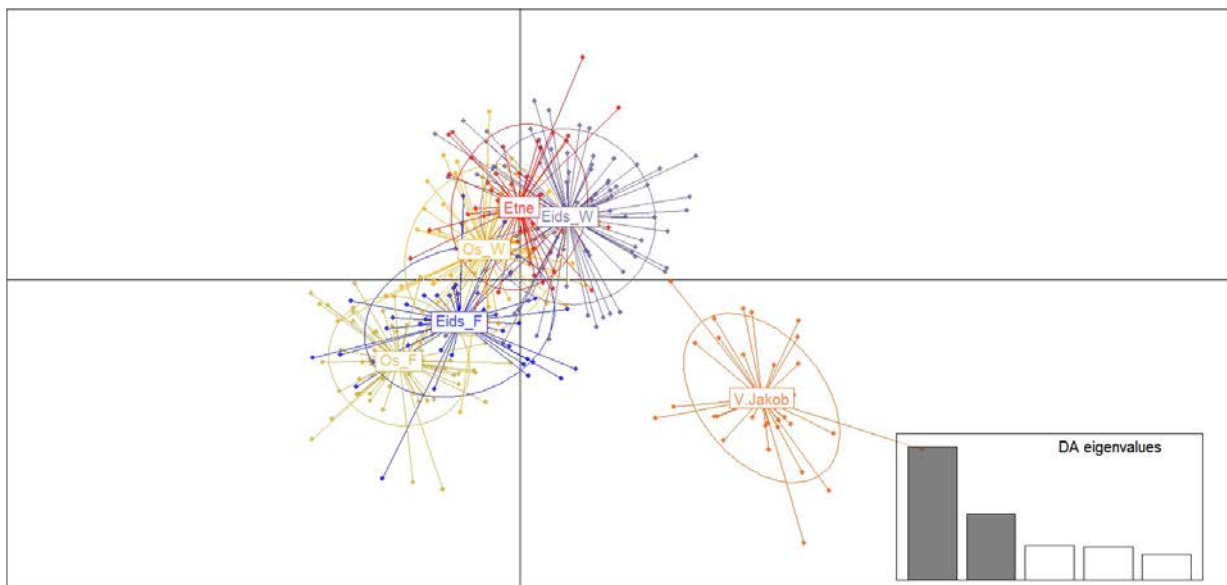
### Analyse av vill og rømt gytefisk

I første omgang ble den genetiske diversiteten mellom og innen de enkelte gytepopulasjonene Eidselva (oppdrett), Eidselva (vill), Oselva (oppdrett), Oselva (vill), Etneelva (vill) og Vestre Jakobselva (vill) undersøkt. De parvise  $F_{ST}$ -verdiene er signifikante mellom alle par. Vestre

Jakobselv peker seg ut med høyere  $F_{ST}$ -verdi i sammenligninger med de andre ville bestandene. Det er som ventet siden denne populasjonen hører til en nordlig gruppe av russisk og nordnorsk laks som avviker fra laksepopulasjonene lenger sør på norskekysten. Som ventet ser vi også at forskjellene mellom oppdrett og vill laks er større enn mellom de ville populasjonene. Dette illustreres også i prinsipalkomponent-analysen (PCA) hvor Vestre Jakobselv plasserer seg i avstand fra de andre ville populasjonene, samtidig som de to prøvene med oppdrettsbakgrunn fra Eidselva og Oselva grupperer seg sammen.

**Tabell 3:** Parvise  $F_{ST}$  (under diagonal) og  $P$ -verdier (over diagonal) etter 10 000 permutasjoner. Signifikante  $F_{ST}$ -verdier er vist som uthevet: De parvise  $F_{ST}$ -analysene viser signifikante forskjeller mellom alle par.

	Eidselva oppdrett	Eidselva vill	Os oppdrett	Os vill	V.Jakobselva vill	Etne vill
Eidselva oppdrett		<0.0001	0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Eidselva vill	<b>0.0138</b>		<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.01109
Os oppdrett	<b>0.0117</b>	<b>0.0229</b>		<0.0001	<0.0001	<0.0001
Os vill	<b>0.0142</b>	<b>0.0071</b>	<b>0.0141</b>		<0.0001	0.02921
V.Jakobselva vill	<b>0.0354</b>	<b>0.0244</b>	<b>0.0479</b>	<b>0.0371</b>		
Etne vill	<b>0.0165</b>	<b>0.0035</b>	<b>0.0245</b>	<b>0.0036</b>	<b>0.0308</b>	



**Figur 4:** PCA-plott av vill og rømt oppdrettet gytefisk.

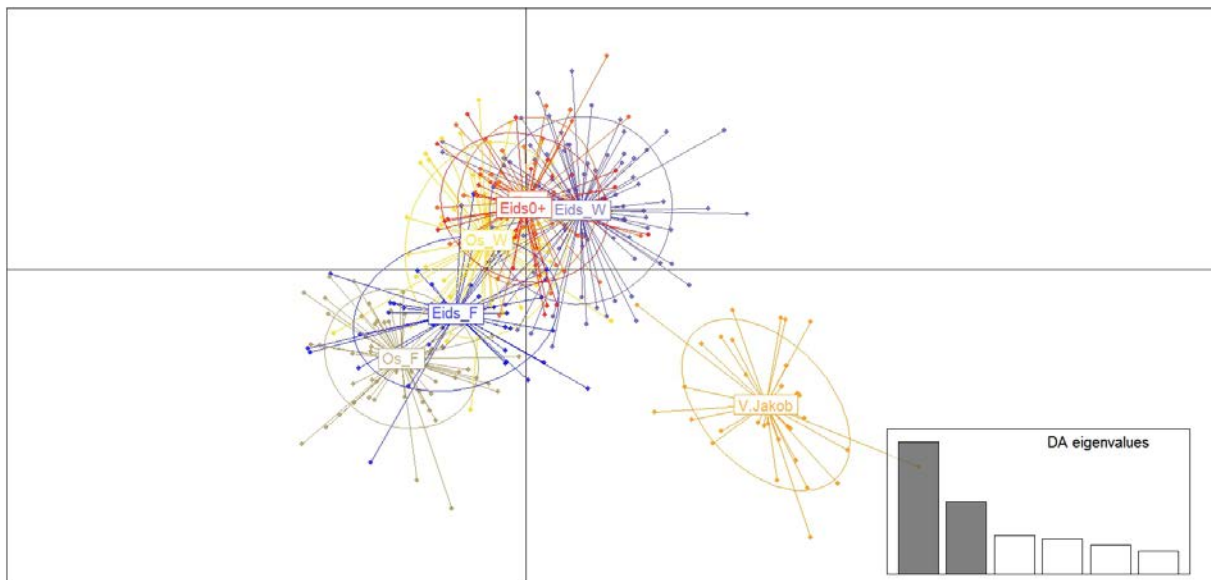
### Eidselva

I Eidselva er det en svak, men signifikant differensiering mellom gytefisk og 0+ gruppen. De parvise testene viste signifikant differensiering mellom oppdrett og vill gytefisk og mellom oppdrett gytefisk og 0+ gruppen, mens det ikke var differensiering mellom vill gytefisk og 0+ gruppen. Her konkluderer vi med at 0+ gruppen er produsert av den ville gytefisken. "Self-assignment"-testen indikerer at av 27 analyserte individ av 0+ gruppen, har ett av individene

mest sannsynlig opphav i oppdrettet gytefisk. Prinsipalkomponent-analysen viser igjen at villmaterialet grupperer seg sammen, med unntak av Vestre Jakobselv, og at de to prøvene av oppdrettslaks grupperer seg sammen. Gruppen av 0+ avkom ligger tett inntil vill gytefisk av Eidselva og Etneelva.

**Tabell 4:** Parvise  $F_{ST}$  (under diagonal) og  $P$ -verdier (over diagonal) etter 10 000 permutasjoner. Signifikante  $F_{ST}$ -verdier er vist som uthevet: De parvise  $F_{ST}$ -analysene viser signifikant genetisk differensiering mellom oppdrettet og vill gytefisk ( $F_{ST}=0.0136$ ,  $P<0.0001$ ) og mellom oppdrettet gytefisk og 0+ ( $F_{ST}=0.0127$ ,  $P<0.0001$ ).

	Oppdrettet gytefisk	Vill gytefisk	0+
Oppdrettet gytefisk		<0.0001	<0.0001
Vill gytefisk	<b>0.01362</b>		0.99446
0+	<b>0.01270</b>	0.0000	



**Figur 5:** PCA-plott av vill og rømt oppdrettet laks samt 0+ fra Eidselva.

**Tabell 5:** ”Self assignment” er en analyse av det mest sannsynlige opphavet til 0+ yngelen i Eidselva og viser at 26 av 27 undersøkte individer har klart høyest sannsynlig opphav i den ville gytefisken, mens ett individ kan ha opphav i oppdrettslaksen. I dette datasettet ville 62,3 % av individene bli korrekt identifisert.

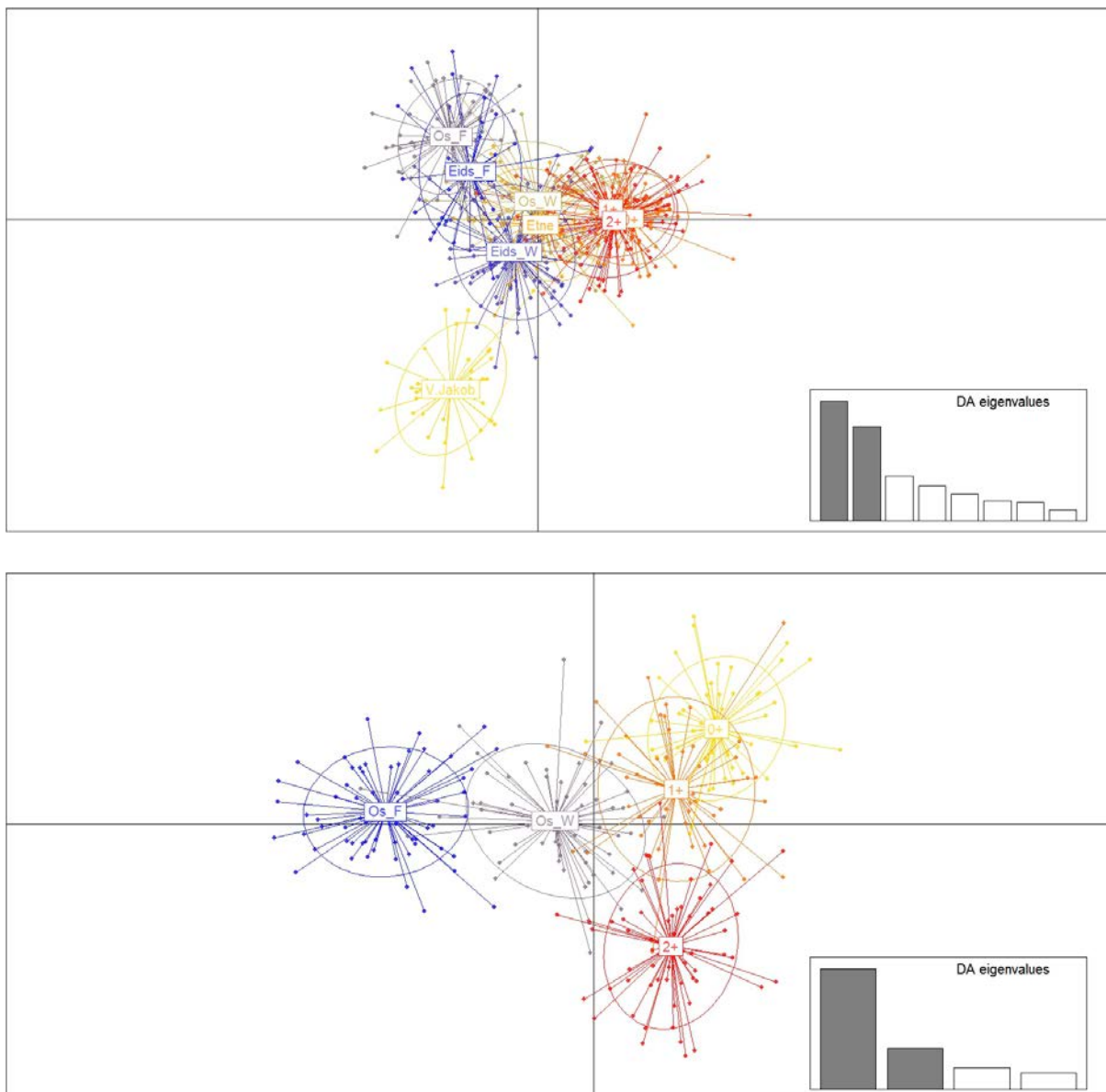
ID	Oppdrettet (sannsynlighet)	Vill (sannsynlighet)	Direkte assignment
2326_1163_Ei11-St6-34_C05_022	0.0001	0.1110	Wild
2326_1163_Ei11-St6-35_D05_021	0.0175	0.8349	Wild
2326_1163_Ei11-St6-36_E05_020	0.0000	0.0194	Wild
2326_1163_Ei11-St6-37_F05_019	0.0024	0.2676	Wild
2326_1163_Ei11-St6-38_G05_018	0.0001	0.0038	Wild
2326_1163_Ei11-St6-40_A06_024	0.0000	0.0011	Wild
2326_1163_Ei11-St6-41_B06_023	0.0000	0.2168	Wild
2326_1163_Ei11-St6-42_C06_022	0.0027	0.3149	Wild
2326_1163_Ei11-St6-43_D06_021	0.0000	0.1017	Wild
2326_1163_Ei11-St6-44_E06_020	0.0060	0.0064	Wild
2326_1163_Ei11-St6-45_F06_019	0.0000	0.0135	Wild
2326_1163_Ei11-St6-46_G06_018	0.0006	0.3652	Wild
2327_1163_Ei11-St5-122_E10_036	0.0002	0.2991	Wild
2327_1163_Ei11-St5-125_H10_033	0.0000	0.0312	Wild
2327_1163_Ei11-St5-126_A11_048	0.0000	0.4847	Wild
2327_1163_Ei11-St5-127_B11_047	0.2506	0.4884	Wild
2327_1163_Ei11-St5-128_C11_046	0.0205	0.2713	Wild
2327_1163_Ei11-St5-129_D11_045	0.0000	0.0341	Wild
2327_1163_Ei11-St5-130_E11_044	0.0177	0.3742	Wild
2328_1172_Ei11-St4-214_H05_017	0.0000	0.2092	Wild
2328_1172_Ei11-St4-221_D03_013	0.0000	0.0604	Wild
2328_1172_Ei11-St4-222_E03_012	0.0534	0.6428	Wild
2329_1172_Ei11-St1-255_A04_016	0.0004	0.2168	Wild
2329_1172_Ei11-St1-257_C04_014	0.0067	0.6352	Wild
2329_1172_Ei11-St3-306_H10_033	0.0000	0.0643	Wild
2329_1172_Ei11-St3-312_F11_043	0.0002	0.7615	Wild
2330_1165_Ei11-St2-364_H03_009	0.8942	0.8926	Farm

### Oselva

I Oselva er det også en signifikant differensiering i totalmaterialet. Det er også en signifikant differensiering mellom oppdrettet og vill gytefisk og mellom oppdrettet gytefisk og alle undersøkte aldersgrupper 0+, 1+ og 2+ av ungfisk. Samtidig ser vi at Fst-verdiene mellom vill gytefisk og alle grupper parr er langt mindre enn de er mellom oppdrettet gytefisk og grupper av parr, og mellom vill gytefisk og 1+ parr er det ingen forskjell. Parrmaterialet er derfor mer likt vill enn rømt gytefisk. Dette bekreftes av ”Self-assignment”-testen, der 94,2, 96,0 og 90,3 % av henholdsvis 0+, 1+ og 2+ gruppene blir identifisert som avkom av villfisk. I dette datasettet ville 49,6 % av individene (som er svakt) bli korrekt identifisert. I prinsipal-komponent-analysen ser vi at de tre gruppene avkom grupperer seg tett sammen, og nærmere Oselva vill gytefisk enn Oselva oppdrett gytefisk. Tatt i betraktning metodiske utfordringer med representativ sampling av parren, er det ikke overraskende at vi også ser noe heterogenitet mellom aldersgruppene av parr.

**Tabell 6:** Parvise  $F_{ST}$  (under diagonal) og  $P$ -verdier (over diagonal) etter 10 000 permutasjoner. Signifikante  $F_{ST}$ -verdier er vist som uthevet.

	Oppdrett gytefisk	Vill gytefisk	0+	1+	2+
Oppdrett gytefisk		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Vill gytefisk	<b>0.0147</b>		<0.0001	0.1251	<0.0001
0+	<b>0.0468</b>	<b>0.0121</b>		0.6834	<0.0001
1+	<b>0.0335</b>	0.0023	0.0000		0.0061
2+	<b>0.0396</b>	<b>0.0125</b>	<b>0.0114</b>	<b>0.0060</b>	

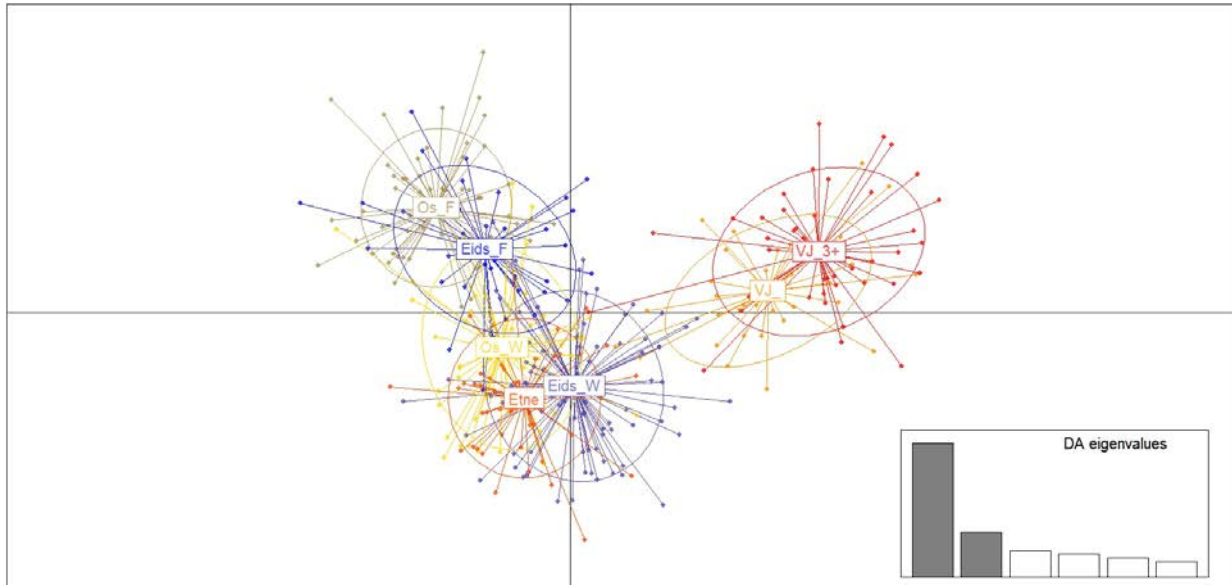


**Figur 6:** PCA-plott av vill og rømt oppdrettet laks samt 0+, 1+ og 2+ (øverst), og plott av vill og rømt laks fra Oselva sammen med 0+, 1+ og 2+ fra samme elv.



### Vestre Jakobselva

I Vestre Jakobselva, hvor vi sammenligner vill gytefisk mot avkom av alder 3+, er det en svak, men likevel signifikant forskjell på gytefisk og avkom ( $F_{ST}=0,005$ ;  $P=0,0222$ ). I prinsipalkomponent-analysen ser vi imidlertid at avkommet grupperer seg til gytefisken fra Vestre Jakobselv, mens de tre andre prøvene av vill gytefisk grupperer seg sammen, og det samme gjelder de to prøvene av rømt oppdrettsfisk.



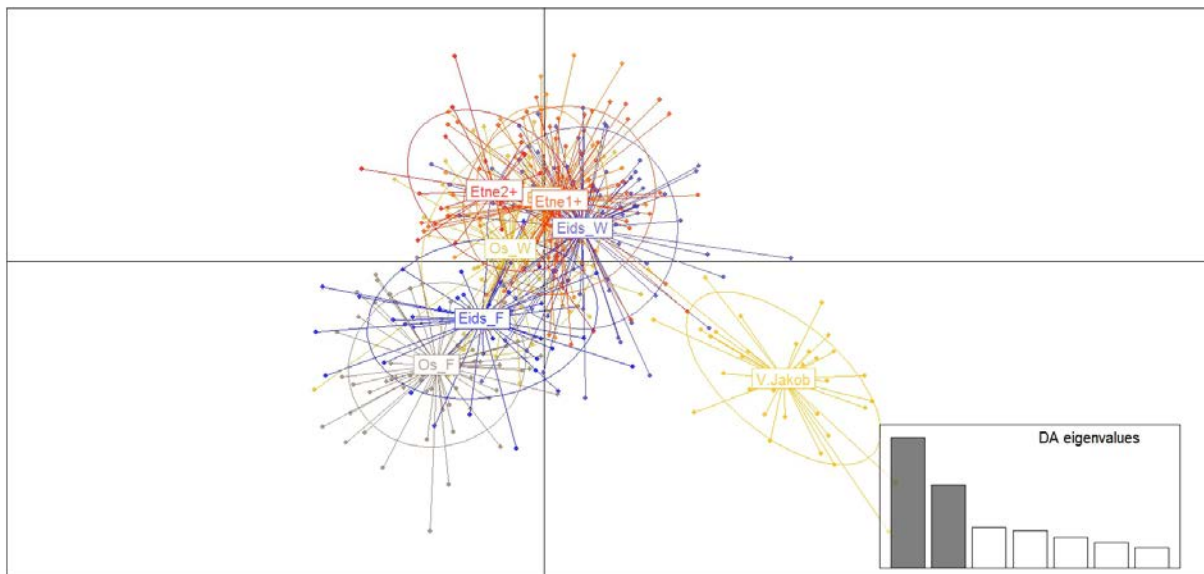
**Figur 7:** PCA-plott av vill og rømt oppdrettet gytefisk samt 3+ parr fra Vestre Jakobselva.

### Etneelva

I Etneelva sammenligner vi vill gytefisk med avkom av aldersgruppe 1+ og 2+. I totalmaterialet er det ingen signal på differensiering ( $F_{ST}=0,00114$ ;  $P=0,1513$ ). Det er heller ingen signal på differensiering i noen av de parvise sammenligningene. Her konkluderer vi med at avkommet er lik den ville gytefisken, både ved alder 1+ og 2+. Prinsipalkomponent-analysen viser at materialet av foreldre og avkom fra Etneelva grupperer seg tett, og nærmest vill gytefisk fra Eidselva og Oselva, med avstand til Vestre Jakobselv, mens de to prøvene av rømt oppdrettslaks grupperer seg sammen.

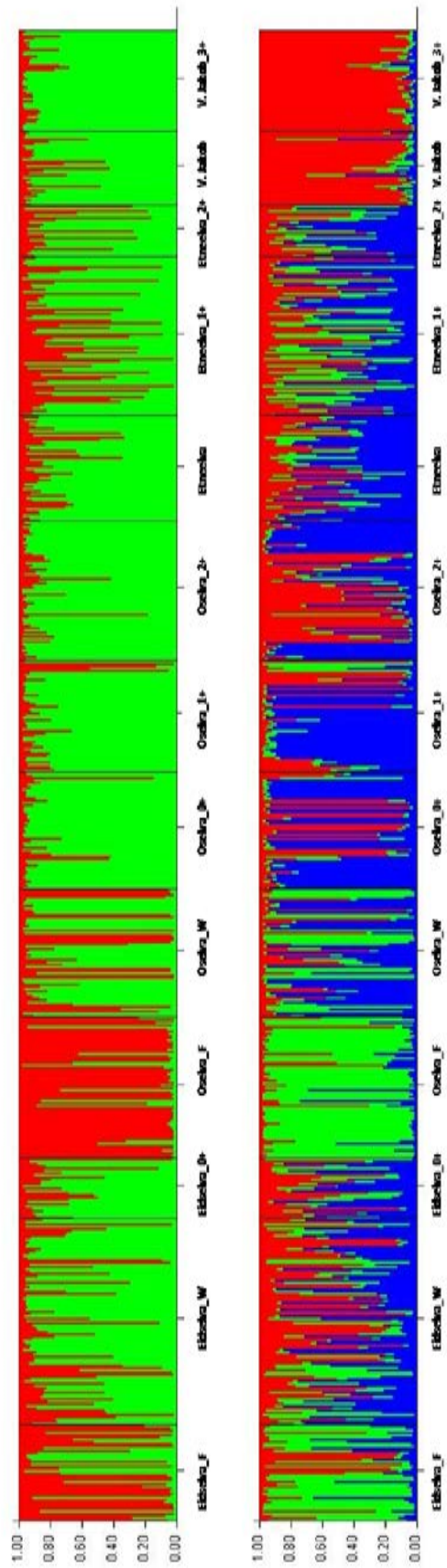
**Tabell 8:** Parvise  $F_{ST}$  (under diagonal) og  $P$ -verdier (over diagonal) etter 10 000 permutasjoner. Signifikante  $F_{ST}$ -verdier er vist som uthevet.

	<b>Etne gytefisk</b>	<b>Etne 1+</b>	<b>Etne 2+</b>
<b>Etne gytefisk</b>		0.3145	0.0840
<b>Etne 1+</b>	0.0006		0.2707
<b>Etne 2+</b>	0.0028	0.0012	



**Figur 8:** PCA-plott av vill og rømt oppdrettet gytefisk og 1+ og 2+ i Etneelva.

Programmet STRUCTURE identifiserer det mest sannsynlige antall genetiske grupper (verdier av "K") i det undersøkte materialet. Hver farge representerer en genetisk gruppe, og hver vertikal linje representerer ett individ. Et individ kan bestå av flere farger, som da viser tilhørigheten til de genetiske gruppene. Plottene for K=2 og K=3 visualiserer de tydelige genetiske forskjellene mellom oppdrettet og vill gytefisk i Eidselva, og tilsvarende i Oselva. I Eidselva avviker 0+ parren tydelig fra den rømte gytefisken. For Oselva er bildet mer sammensatt. Også her er 0+ og 1+ parren mer ulik den rømte gytefisken og mer lik vill, men samtidig ser vi av K=3-plottet at det er større heterogenitet i materialet, og særlig 2+ parren avviker fra de andre villfiskgruppene i elven. Det kan være flere årsaker til dette, men det er særlig naturlig å peke på problemer med ikke-representativ sampling av både gytefisk og parr. I Etneelva viser begge plott noe heterogenitet mellom gytefisk og parrprøver. Her hadde vi kun tilgang på prøver av den ville gytefisken, og det kan derfor tenkes at denne heterogeniteten skyldes gyting fra rømt oppdrettslaks. I Vestre Jakobselva viser begge plott stor likhet mellom vill gytefisk og parr. STRUCTURE-analysen viser i hovedsak ulikhet mellom rømt gytefisk og parrmateriale, og bekrefter derfor en svak sammenheng mellom andel rømt fisk i gyteområdet og genetisk forandring i F1-generasjonen.



Figur 9: STRUCTURE-plott for K=2 og K=3 for totalmaterialet i undersøkelsen.

## Oppsummering og konklusjoner

- For å undersøke sammenhengen mellom observert mengde rømt laks i gyteområdene og genetisk forandring hos parr i etterfølgende generasjon, dvs. innen samme årsklasse, ble relevant litteratur gjennomgått. Siden disse undersøkelsene av metodiske årsaker ikke gir et utfyllende svar, har vi også gjennomført nye og mer spesifikke undersøkelser i de fire laksevasdragene Eidselva, Etneelva, Oselva og Vestre Jakobselva der man har detaljert informasjon om andel rømt oppdrettslaks og prøver av spesifikke årsklasser av gytefisk og avkom.
- Det gjennomgående resultatet fra litteraturen er at det er svak sammenheng mellom andel rømt laks i gytebestand og genetisk påvirkning i F1-generasjonen. Resultatene fra kohortstudien i de fire laksepopulasjonene peker i samme retning. Andel rømt laks i de fire undersøkte gytebestandene varierer fra 19 til 56 %. Både Fst-verdier og PCA-plott viser imidlertid at parren er ulik den rømte oppdrettsfisken og grupperer seg nært til den ville gytefisken. Assignment-analysene indikerer at svært få avkom har oppdrettslaks som foreldre.
- Det er flere kjente forhold som kan bidra til en svak sammenheng, blant annet unøyaktig estimat for andel rømt oppdrettsfisk, ufullstendige opplysninger om kjønnsmodning hos rømt fisk fanget i elv, ikke-representativ utvalg av gytefisk og parr til undersøkelsene, ulik gytesuksess hos vill og rømt gytefisk, kjønns spesifikk gytesuksess hos oppdrettsfisk og naturlig seleksjon mot avkom av oppdrettsfisk i naturlige miljø.
- De kontrollerte feltforsøkene i Guddalselven med utplanting av familiegrupper med definert antall rognkorn av oppdrettslaks, villaks og krysninger bidrar til en økt kunnskap om mekanismer bak den relativt svake sammenhengen mellom andel rømt fisk i gytepopulasjon og genetisk forandring målt på parr i etterfølgende generasjon, som observert i kohortstudien i de fire populasjonene. Undersøkelsene i Guddalselven avdekket blant annet stor familievariasjon i overlevelse, og en særlig stor spredning i overlevelse mellom familier av oppdrettslaks (0,17-6,4 %). Dette betyr at tilslaget hos rømt gytefisk er familieavhengig, og vil kunne variere fra tilfelle til tilfelle avhengig av oppdrettsfiskens genetiske bakgrunn. Eggstørrelse hadde stor betydning for overlevelsen, og siden den varierer mye på grunn av både arv og miljøfaktorer kan dette bidra til den svake sammenhengen mellom observert andel rømt fisk på gyteplassen og genetisk forandring i neste generasjon. Det må fremheves at halvsøskengrupper med oppdrettsmor hadde gjennomgående høyere overlevelse når de hadde vill far sammenlignet med når de hadde oppdrettslaks som far. Dette betyr i praksis at også valg av make på gyteplassen påvirker overlevelsen hos avkommet og dermed den genetiske påvirkningen i parrpopulasjonen. Videre avtok den relative overlevelsen hos rene oppdrettsfamilier sammenlignet med krysningsgruppene som hadde vill far når tettheten av fisk økte i habitatet, noe som i praksis betyr at påvirkningen i parrpopulasjonen også er avhengig av tetthet av parr i habitatet.
- Oppsummert betyr dette at en gitt oppdrettsfisks bidrag til parrpopulasjonen i elven, er påvirket av en rekke biologiske og genetiske faktorer som sammen med samplings-

problematikk bidrar til en svak sammenheng mellom observert andel rømt fisk i gytebestand og genetisk påvirkning i etterfølgende årsklasse av parr. Det understrekes samtidig at i våre internasjonale arbeid der vi har analysert genetiske forandringer over flere generasjoner, er det en svak til moderat, dvs. en noe tydeligere sammenheng mellom observert andel rømt laks i gytepopulasjon og de genetiske forandringene vi påviser og som skyldes rømt oppdrettslaks. I lys av eksisterende kunnskap om gyte-suksess hos rømt og vill laks, og variasjon i overlevelse fra øyerogn til smolt, er resultatene ikke uventet.

## Takk

Vi ønsker å takke Rådgivende Biologer, Uni-Miljø og Eero Niemelä, Fylkesmannen i Finnmark, for tilgang på prøver til undersøkelsene.

## Referanser

- Cornuet JM, Piry S, Luikart G, Estoup A, Solignac M (1999). New methods employing Multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* 153: 1989–2000.
- Dieringer D, Schlotterer C (2003) MICROSATELLITE ANALYSER (MSA): a platform Independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Molecular Ecology Notes* 3: 167–169.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2003) Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164, 1567-1587.
- Fleming, I.A., Hindar, K., Mjølnerod, I.B., Jonsson, B., Balstad, T. and Lamberg A. 2000. Lifetime success and interactions of farm salmon invading a native population. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 267: 1517-1523.
- Glover KA, Pertoldi C, Besnier F, Wennevik V, Kent M, Skaala Ø. 2013. Atlantic salmon populations invaded by farmed escapees: quantifying genetic introgression with a Bayesian approach and SNPs. *BMC Genetics*. I trykk.
- Glover KA, Quintela M, Wennevik V, Besnier F, Sørvik AGE, Skaala. Ø. 2012. Three decades of farmed escapees in the wild: a spatio-temporal analysis of Atlantic salmon population genetic structure throughout Norway. *PLoS ONE* 7(8): e43129:1-18.
- Hubisz M, Falush D, Stephens M, Pritchard J (2009) Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources* 9, 1322-1332.
- Jombart T (2008) adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24, 1403-1405.
- Karlsson S, Fiske P, Diserud O, Hindar K, Staldvik F. 2012. Genetiske studier av innkrysning av rømt oppdrettslaks i Namsenvassdraget. NINA Minirapport 403. 17 s.
- McGinnity, P., Stone, C., Taggart, J.B., Cooke, D., Cotter, D., Hynes, R., McCamley, C., Cross, T. and Ferguson A. 1997. Genetic impact of escaped farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) on native populations: use of DNA profiling to assess freshwater performance of wild, farmed, and hybrid progeny in a natural river environment. *ICES J. Mar. Sci.* 54: 998-1008.
- McGinnity, P., Prodôhl, P., Ferguson, A., Hynes, R., O'Maoile'ídigh, N., Baker, N., Cotter D., O'Heal, B., Cooke D., Rogan, G., Taggart, J., and Cross, T. 2003. Fitness reduction and

- potential extinction of wild populations of Atlantic salmon, *Salmo salar*, as a result of interactions with escaped farm salmon. Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 270: 2443-2450.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155, 945-959.
- Skaala Ø, Glover KA, Barlaup BT, Svåsand T, Besnier F, Hansen MM, Borgstrøm R. 2012. Performance of farm, hybrid and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) families in a natural river environment. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 69: 1994–2006.
- Skilbrei O, Vølstad JH, Bøthun G, Svåsand T. 2011. Evaluering av datagrunnlaget 2006–2009 for estimering av andel rømt oppdrettslaks i gytebestanden i norske elver Forslag til forbedringer i utvalgsmetoder og prøvetakingsmetodikk. Rapport fra Havforskningen Nr. 7-2011.
- Taranger GL, Svåsand T, Bjørn PA, Jansen PA, Heuch PA, Nygaard Grøntvedt R, Asplin L, Skilbrei O, Glover KA, Skaala Ø, Wennevik V, Kroon Boxaspen K. 2012. Forslag til førstegenerasjons målemetode for miljøeffekt (effektindikatorer) med hensyn til genetisk påvirkning fra oppdrettslaks til villaks, og påvirkning av lakselus fra oppdrett på viltlevende laksefiskbestander. Rapport fra Havforskningen Nr. 13-2012.