



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Institutionen för akvatiska resurser

2023-03-10

Genetisk art- och stambestämning av lax och öring från Vänern och Gullspångsälven

Stefan Palm & Linda Söderberg

stefan.palm@slu.se

Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för akvatiska resurser (SLU Aqua)
Sötvattenslaboratoriet, Stångholmsvägen 2, 178 93 Drottningholm

Bakgrund

Sötvattenslaboratoriet (SLU Aqua) har av Länsstyrelsen Västra Götaland fått i uppdrag att analysera vävnadsprov från vuxen lax fångad vid yrkes- samt trollingfiske i Vänern. Syftet har varit att med hjälp av DNA-analys och genetiska referensdata från tidigare projekt identifiera andelen vildfödd lax med ursprung från Klarälven resp. Gullspångsälven i fångster från Vänerns yrkes- och fritidsfiske. Man har även efterfrågat fjälläsning (åldersbestämning) av DNA-identifierade vildfödda Gullspångslaxar. I tillägg har Länsstyrelsen önskat DNA-baserad artidentifiering (lax, öring eller arthybrid) av elfiskad stirr från Gullspångsälven för att möjliggöra utvärdering av morfologiska artbestämningar gjorda i fält. I detta PM sammanfattas genomförda genetiska analyser och resultat. Preliminära resultat baserade på delar av samma material har tidigare rapporterats separat (Palm & Söderberg 2022).

Material och metoder

Antal provtagna individer (förmodad lax, öring, arthybrid) från yrkes-, trolling- samt elfiske anges i tabell 1. Totalt DNA-analyserades 134 fjällprov tagna av yrkesfiskare (vuxen fisk fångad 2018-2021), 49 fenprov tagna av trollingfiskare (vuxen fisk fångad 2021-2022) samt 40 fenprov från stirr i Gullspångsälven (elfiske 2020 och 2022). Länsstyrelsen har gett instruktioner till berörda yrkes- och trollingfiskare om att endast provta oklippt (vildfödd) lax. Enligt individprotokoll ifyllda av yrkesfiskarna hade 128 av de 134 provtagna fiskar intakt fettfena, medan sex saknade uppgift. I protokollen för individerna provtagna vid trollingfiske saknades genomgående uppgift om fettfena

(ja/nej). I vissa fall hade, enligt fältprotokoll, prover på öring insamlats; totalt 10 individer, varav sex från yrkesfiske (med fettfena) och fyra från trollingfiske (med förmodad fettfena). En fisk provtagen vid yrkesfiske saknade uppgift om art, medan en var angiven som osäker ("lax/öring"). Från Gullspångsälven DNA-analyserades (artbestämdes) totalt 40 stirr fångade på elfiskelokaler i den s.k. Gullspångsforsen, varav 26 provtagna från 2020 och 14 från 2022.

Tabell 1. Antal (n) analyserade individer från Vänern (yrkes- och trollingfiske) samt Gullspångsälven (elfiske), med arttillhörighet enligt fältprotokoll respektive DNA-analys. i.u. = ingen uppgift.

Insamling	n	Art enligt fältprotokoll					Art enligt DNA				
		lax	öring	lax/öring	hybrid	i.u.	lax	öring	hybrid	osäker	ej DNA
Yrkesfiske	134	126	6	1	0	1	122	8	3	1	0
Trollingfiske	49	45	4	0	0	0	45	4	0	0	0
Elfiske	40	21	0	0	19	0	16	0	23	0	1

Efter initial DNA-baserad artidentifiering genomfördes genotypbestämning för lax med avseende på 18 variabla DNA-markörer (s.k. mikrosatelliter), vilka används rutinmässigt vid Sötvattenslaboratoriet (t.ex. Whitlock m.fl. 2018). Det begränsade antalet öringar genotypbestämdes med en uppsättning av 16 mikrosatelliter (Söderberg m.fl. 2019). Utöver dessa analyser användes även en för Sötvattenslaboratoriet ny metodik, där artspecifika varianter för mitokondriellt DNA (mtDNA) som nedärvs maternellt (från honan) analyserades för att avgöra om de identifierade arthybriderna uppstått när en öringhona parats med en laxhane eller *vice versa*.

Andelen vuxen lax med ursprung från Klarälven respektive Gullspångsälven beräknades statistiskt med s.k. MSA- (*Mixed Stock Analysis*) samt IA-analys (*Individual Assignment*). Analyserna genomfördes med programmet ONCOR (Kalinowski m.fl. 2007). Som genetiska referensprover användes genetiska data från tidigare projekt. För Klarälvslox användes data för 963 vuxna vildfödda och odlade individer provtagna 2011-2012 (Palm & Prestegård 2015). Eftersom ingen statistiskt signifikant skillnad kunnat påvisas mellan vildfödd och odlad Klarälvslox slogs samtliga individer samman till ett prov. För Gullspångslax användes dels ett prov bestående av 497 vildfödda stirr från Gullspångsälven (Åråsorsarna och Gullspångsforsen), provtagna 2015-2017 och tidigare DNA-analyserade för 17 av de 18 mikrosatelliterna vid finska Naturresursinstitutet (Luke). Samma genotyper har även använts vid en tidigare ursprungsanalys av lax från Vänern (Palm m.fl. 2018). För Gullspångslax användes vidare ett prov bestående av 319 odlade avelsfiskar provtagna 2019-2021 (Palm 2022).

Även för de fåtaliga öringarna i materialet från Vänern genomfördes MSA och IA med ONCOR baserat på genetiska referensmaterial från tidigare studier; totalt omfattade referenserna 39 vildfödda och 40 odlade Klarälvsöringar samt 335 vildfödda och 318 odlade Gullspångsöringar analyserade med avseende på nio mikrosatelliter gemensamma för äldre analyser vid SLU och finska Luke (Palm m.fl. 2012; Palm & Dannewitz 2018; Palm 2022).

I flera fall försvårades de genetiska analyserna av bristande DNA-kvalitet. Som följd fick många vävnadsprov analyseras upprepade gånger, och i flera fall kunde inte kompletta genotyper för samtliga mikrosatelliter erhållas. För några av proverna från yrkesfisket förekom även kontamination, d.v.s. att DNA från mer än en individ påträffades. Detta kan bero på att man inte varit tillräckligt noga med att torka av det redskap som använts vid fjällprovtagningen. Liknande kvalitetsproblem förekom även vid en tidigare analys av yrkesfiskad lax från Vänern (Palm m.fl. 2018).

Analysen av det elfiskade materialet från 2020 komplicerades av att ID-märkningen på åtta provrör helt eller delvis försvunnit, beroende på märkning med vanlig spritpenna samt att etanol delvis läckt ut under transporten. Rören hade dessutom blandats om, vilket gjorde att deras ordningsföljd i lådan inte gav vägledning om vilket rör (med förlorat löpnummer) som var vilket.

Visuell åldersläsning av fjäll från vuxen Gullspångslax identifierad med hjälp av DNA (tre individer; se nedan) skedde med avseende på sannolikt ursprung (vildfödd/odlad), smoltålder, antal år i sjön samt eventuella tecken på tidigare lek.

Resultat och diskussion

Artbestämning av vuxen fisk (Vänern)

Bland de 134 individerna provtagna av yrkesfiskare identifierades 122 laxar, tre arthybrider samt åtta öringar (tabell 1). En individ med bristfällig DNA-kvalitet kunde antingen vara lax eller arthybrid. Två av de tre arthybriderna bar på mtDNA från lax vilket innebär att de uppstått efter att en laxhona korsats med en öringhane (den tredje hybridens resultat för mtDNA var osäkert). Av de 122 laxarna erhöll 107 (88 %) fullständiga genetiska data för samtliga 18 mikrosatelliter, medan övriga 15 individer saknade data för mellan en och elva av markörerna.

Bland de 49 individerna provtagna av trollingfiskare identifierades fyra öringar, medan övriga individer var laxar. Inga arthybrider påträffades (tabell 1). Noterbart är att bland de fyra fiskar som enligt fältprotokollet var öring, visade DNA-analys att en var lax. Samtidigt var en av de förmodade laxarna en öring. Om detta kan bero på svårigheter att i vissa fall skilja vuxen lax från öring, eller sammanblandade individuppgifter är oklart. Av de totalt 45 trollingfiskade laxarna erhöll 43 (96 %) fullständiga genetiska data, medan två individer saknade data för en av DNA-markörerna.

Ursprungsanalys lax (Vänern)

Enligt statistisk analys (MSA) baserad på samtliga 167 DNA-identifierade laxar från yrkes- och trollingfiske skattades andelen med ursprung från Gullspångsälven till ca 3 %, med 95 % konfidensintervall från 0 % till ca 5 % (tabell 2). En liknande andel Gullspångslax (ca 2 %; 0-5 %) erhölls när endast 151 individer med fullständig genotyp (17 mikrosatelliter) ingick i analysen (tabell 2). Under förutsättning att endast laxar med intakt fettfena ingår i materialet, och det kan betraktas som ett hyfsat representativt stickprov för all lax med fettfena i Vänern under den aktuella tidsperioden (2018-2022), tycks alltså 2-3 % vara vildfödda från Gullspångsälven. Liknande andelar av vild Gullspångslax (1-3 %) har även erhållits vid tidigare ursprungsanalyser för lax med fettfena från Vänern (se Palm m.fl. 2018 med referenser).

Tabell 2. Resultat från MSA-analyser (ONCOR) för vildfödd lax (d.v.s. med intakt fettfena) från Vänern fångade vid yrkes- och trollingfiske 2018-2022: skattningar med 95 % konfidensintervall (inom parentes), baserade på samtliga individer respektive de med kompletta genetiska data (17 mikrosatelliter).

Stam	All lax (n=167)	Lax med komplett genotyp (n=151)
Klarävlslax	0,971 (0,941 -- 0,994)	0,978 (0,951 -- 1,000)
Gullspångslax	0,029 (0,006 -- 0,059)	0,022 (0,000 -- 0,049)

Enligt IA-analys (*Individual assignment*) fanns det tre individer bland de 167 laxarna från fisket i Vänern som med relativt hög sannolikhet (>95 %) härstammade från Gullspångsälven. Samtliga dessa var fjällprovtagna (yrkesfiske) och hade nästan helt kompletta genetiska data; endast en av individerna saknade genotyp för en av de 17 markörerna. Fångstplats och datum för dessa tre

sannolika Gullspångslaxar framgår av en Excel-fil med genetiska rådata, art- och stambestämmingar samt övriga metadata som levereras till Länsstyrelsen separat. Tilläggas bör att de tre (eller fyra) arthybrider som identifierats också kan vara vildfödda i Gullspångsälven, där andelen hybridstirr varit hög under senare år, även om det faktum att de vuxna hybriderna bär på mtDNA från lax gör att de avviker från den hybridstirr från älven som analyserats (som i samtliga fall utom ett burit på mtDNA från öring; se nedan).

Åldersanalyserna baserade på läsning av fjäll från de tre sannolika Gullspångslaxarna försvårades av att proven föreföll vara tagna på någon mindre lämplig del av fisken (ovanligt stor storleksvariation), och resultaten blev därför tämligen osäkra. Antalet år i sjön (adultåldern) varierade mellan ett och två. Trots uppgift om fettfena hade fjällen ett utseende som indikerade att individerna tycktes vara uppvuxna i odling (en individ var dock mer osäker än de övriga). Av samma anledning var det svårt att bedöma individernas smoltålder, då denna bestäms utifrån tillväxtmönstret nära fjällets centrum vilket påverkas av uppväxtmiljön och därför var svårt att tolka (då fjällen hade odlat utseende).

Ovanstående resultat baserade på DNA-analyser samt fjällläsning för de få Gullspångslaxarna i materialet väcker en del frågor om hur det analyserade materialet samlats in, i vilken grad det går att lita på individuppgifterna samt i vilken omfattning det kan förekomma odlad Gullspångslax i Väneren utan klippt fettfena. En annan mindre osäkerhetsfaktor är i vilken grad det relativt gamla referensprovet för Klarälvslax (från 2011-2012) fortfarande är representativt för denna stam. En förnyad DNA-analys av vild Klarälvslax genomförs 2023 på uppdrag från Länsstyrelsen Värmland.

Artbestämning av stirr (Gullspångsälven)

Totalt analyserades 40 individer provtagna vid elfiske i Gullspångsälven (Gullspångsforsen) 2020 och 2022, varav 21 förmodade laxar och 19 arthybrider enligt morfologisk bedömning i fält. Efter DNA-analys visade sig 16 av individerna vara lax och 23 hybrider, medan en fisk inte kunde artbestämmas p.g.a. bristande DNA-kvalitet (tabell 1). Av de anledningar som nämns ovan försvårades dock utvärderingen av de morfologiska artbestämningarna genom att några av individerna från 2020 inte säkert kunde knytas till fältprotokollet. Av totalt 34 individer med säker koppling till fältprotokoll (20 st. från 2020, samtliga 14 från 2022) hade 17 visuellt bedömts som hybrider och 17 som lax. Medan samtliga 17 hybrider var korrekt identifierade var fyra av de 17 förmodade laxstirren hybrider (samtliga från 2022). Sammantaget tyder detta på att den personal som utfört elfiskena i Gullspångsälven haft god förmåga att identifiera arthybrider utifrån morfologi, medan man i några fall felbedömt hybrider som lax. Den sanna andelen hybrid-stirr i materialet från 2022 var således något högre än ursprungligen bedömt.

Bland de 23 DNA-identifierade arthybriderna bar 22 på mtDNA från öring, vilket innebär att de uppstått efter korsning av en öringhona med en laxhane. Detta tycks också vara det vanligaste parningsmönstret vid hybridisering mellan arterna, även om enstaka exempel på motsatsen (laxhona x öringhane) finns rapporterade (se Palm m.fl. 2013 med referenser). Den enda individen med mtDNA från lax bar även på två "lax-anlag" samt ett "öring-anlag" för flera av mikrosatelliterna vilka använts för ursprungs- och artbestämning och representerar DNA i cellkärnan. Detta innebär att individen tycks utgöra en s.k. allotriploid, vilken sannolikt uppstått vid återkorsning (backcross) mellan en arthybrid i första generationen (F1) och en lax. Eftersom samtliga arthybrider som tidigare identifierats bland stirr från Gullspångsforsen burit på mtDNA från öring är det mest troliga att det vid den aktuella återkorsningen varit en hybridhane som befruktat rom från en laxhona (därav mtDNA från lax). Resultatet är oroväckande då det tyder på att vuxna hybrider återvänt och deltagit vid leken i Gullspångsälven, vilket kan ha resulterat i tillintetgjorda lekar och sänkt produktion i det redan svaga beståndet av vild Gullspångslax. Även om det hittills endast handlar om en återkorsad individ som identifierats via DNA kan problemet med återkorsningar och spolerade lekar vara

betydligt större eftersom tidigare studier (bl.a. i Mörrumsån) visat att avkomma från just denna form av återkorsning (hybridhane med laxhona) har mycket låg överlevnad (Palm m.fl. 2013).

Ursprungsanalys öring (Vänern)

Av de totalt 12 identifierade öringarna från Vänern (tabell 1) erhöll 10 genetiska data, medan två uppvisade tecken på att vara kontaminerade (DNA från flera individer). Andelen Gullspångsöring bland oklippt öring från Vänern skattades till ca 23 %, men med ett brett 95 % konfidensintervall som gick från 0 till 59 % (tabell 3). Den stora osäkerheten beror sannolikt främst på det låga antalet individer i stickprovet, även om också antalet markörer (9 stycken) var jämförelsevis lågt. Enligt IA-analys var två av de 10 individerna med hög sannolikhet (>99 %) Gullspångsöringar.

Tabell 3. Resultat från MSA-analys (ONCOR) för 10 vildfödda öringar (med fettfena) från yrkes- och trollingfiske i Vänern 2018-2022): skattningar med 95 % konfidensintervall (inom parentes), baserade på 9 mikrosatelliter.

Stam	Alla öringar (n=10)
Klarälvsöring	0,774 (0.411 -- 1.000)
Gullspångsöring	0,226 (0.000 -- 0.589)

Erkännanden

Arbetet har skett på uppdrag från Länsstyrelsen Västra Götaland (Lst Dnr 623-37784-2020, 623-43081-2022). Tack till Magnus Kokkin och Malin Hällbom (SLU Aqua) för assistans med åldersbestämningar. Texten har granskats av Johan Dannewitz (SLU Aqua).

Referenser

- Kalinowski ST, Manlove KR, Taper M (2007). ONCOR: a computer program for genetic stock identification. Montana State University.
- Palm S, Dannewitz J, Johansson D, Laursen F, Norrgård J, Prestegaard T, Sandström A (2012). Populationsgenetisk kartläggning av Vänerlax. *Aqua reports* 2012:4. 64 s.
- Palm S, Dannewitz J, Prestegaard T, Östergren J (2013). Laxing och felvandrad lax i Mörrumsån. En genetisk analys. *Aqua reports* 2013:20. 44 s.
- Palm S, Prestegaard T (2015). Genetisk föräldraskapsanalys av vildfödd lax i Klarälven. Delkapitel (s. 254-263) i slutrapport för Interreg-projekt: Vänerlaxens fria gång – två länder, en älv. Redaktörer: Pär Gustafsson, Mikael Hedenskog, Tore Qvenild.
- Palm S, Dannewitz J (2018). Genetisk status och bevarandemål för lax och öring i Gullspångsälven. Biologisk rådgivning från SLU, 17 s.
- Palm S, Söderberg L (2022). Genetisk analys av lax från Vänern och Gullspångsälven. PM från Sveriges lantbruksuniversitet, 3 s.
- Palm S, Söderberg L, Kokkin M (2018). Biologisk analys av nätfångad lax från Vänern. PM från Sveriges lantbruksuniversitet, 8 s.
- Palm S (2022). Genetisk status hos odlad Gullspångslax och –öring. Kunskapsunderlag från Sveriges lantbruksuniversitet, 21 s.
- Söderberg L, Östergren J, Palm S (2019) Genetisk analys av avelsfisk. Lax och havsöring 2017-2018 från svenska kompensationsodlingar. *Aqua reports* 2019:18. 53 s.
- Whitlock R, Mäntyniemi S, Palm S, Koljonen M-L, Dannewitz J, Östergren J (2018). Integrating genetic analysis of mixed populations with a spatially-explicit population dynamics model. *Methods in Ecology and Evolution* 9:1017-1035.