

2.2.1 Genetiske forskjeller mellom skrei og kysttorsk – hvordan identifisere enkeltfisk i blandingsfangster?

Vurderingene av fangstuttak på bestandene av skrei og kysttorsk er avhengige av korrekte identifiseringsmetoder, og dette må videre være grunnlaget for valg av forvaltningstiltak. Et både velkjent og kontroversielt eksempel er torskefisket i Lofoten. Her gyter både kysttorsk og skrei i stort sett de samme områdene og kan derfor tas i de samme fangstene. De siste årene er det gjennomført omfattende genetiske analyser på torsk, både i Lofoten og langs hele norskekysten. De genetiske dataene fra Lofoten-materialet er testet ved hjelp av ulike statistiske programmer for analyse av blandete bestander, og resultatene viste at enkeltfisk kunne bestemmes til skrei- eller kysttorskgruppen med høy presisjon. Disse resultatene var i god overensstemmelse med otolittklassifiseringen. *Pan I* og enkelte av mikrosatellittene var klart best egnet av de undersøkte markørene når det gjaldt individuell identifisering. En utfordring vil nå bli å tilpasse *Pan I*-analysene til feltbruk, slik at metodikken kan brukes om bord i forskningsfartøy eller uavhengig av velutstyrte laboratorier.

Vidar Wennevik

vidar.wennevik@imr.no

Knut Eirik Jørstad

knut.joerstad@imr.no

Geir Dahle

geir.dahle@imr.no

Svein-Erik Fevolden

sveinf@nfh.uit.no

Norges fiskerihøgskole,
Universitetet i Tromsø

Bærekraftig forvaltning av fiskeressurser krever løpende oppdatert kunnskap både om rekruttering og ikke minst uttak i fisken. Her representerer et fiske på blandete bestander en viktig utfordring for fiskeriforvaltningen, både i Norge og ellers i verden. Særlig såkalt svake bestander er utsatt i et fiske der det samtidig høstes av flere bestander. Dette er altså langt på vei tilfellet under Lofotfisket, der skrei (nordøstarktisk torsk) og kysttorsk gjerne inngår i samfengte fangster. Hovedtyngden av kysttorsk gyter vanligvis i de indre områdene som Henningsværstraumen og Hølla utenfor Svolvær, mens skreien oftest dominerer på bankene på utsiden av Lofoten. Her er det imidlertid store variasjoner, og avhengig av temperaturforholdene kan skreiinnsiget enkelte år komme langt inn i Vestfjorden. Hvor stor blanding det er av de to gruppene i fangstene vil derfor variere fra år til år.

Forvaltning av stillehavslaks

Problemer knyttet til fiske på blandete bestander er velkjent for de ulike artene av stillehavslaks. Flere av disse vandrer ut i estuarier og det åpne havet hvor det beiter i de samme havområdene, for deretter å vandre tilbake til den elven de opprinnelig kom fra. Både USA, Canada, Russland og Japan er involvert i utviklingen av forvaltningsregimer for disse artene og deres mange underpopulasjoner. Et kritisk punkt her er å kunne identifisere de enkelte populasjonskomponentene og oppnå størst mulig sikkerhet for at identifiseringen er korrekt. Til å bestemme andelen av enkeltbestander i et blandingsfiske har det i denne sammenheng særlig vært brukt genetisk karakterisering i kombinasjon med utvikling av spesielle statistiske verktøy. Dette arbeidet startet allerede på slutten av 1980-tallet, og

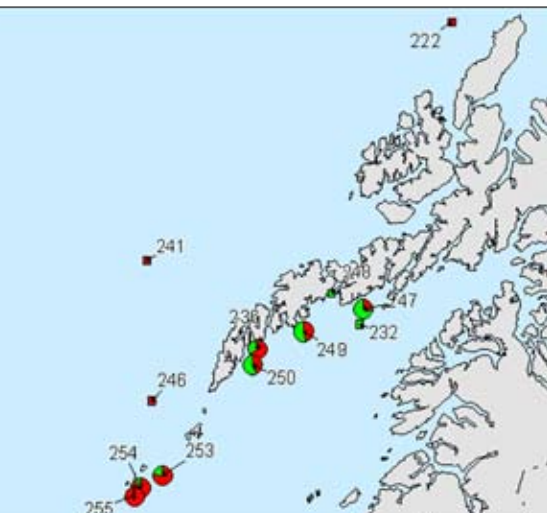
en rekke store laboratorier på Stillehavskysten er involvert. Denne tilnærmingen er videre tatt i bruk i forvaltningen av de ulike lakseartene.

Helt grunnleggende for å kunne bruke genetiske analyser i det som kalles "Genetic Stock Identification" (GSI), er kartlegging av gensammensetningen i de forskjellige bestandene som opptrer i blandingsfangstene i sjøen. For stillehavslaks brukes det prøver av fisk fra de aktuelle elvene, og det er laget en spesifikk genprofil for hver bestand. I starten av dette arbeidet ble det hovedsakelig studert genetisk variasjon i allozymer, men etter hvert har en tatt i bruk DNA-mikrosatellittanalyser. I dag går utviklingen videre mot å bruke såkalte SNP-er ("single nucleotide polymorphism"), som er en mindre genetisk endring i en DNA-sekvens, og disse forekommer relativt hyppig.

Hovedprinsippet for både GSI og den mer moderne utgaven "Mixed Stock Analysis" (MSA) er imidlertid det samme: En blandingsprøve blir analysert ved hjelp av et sett av genmarkører, og de genetiske profilene blir deretter sammenlignet med tilsvarende profiler fra de antatte referansebestandene. Ved hjelp av sofistikerte statistiske metoder (maximum likelihood; Bayes statistikk), beregnes så andelen av hver bestand i den aktuelle blandingsprøven. I noen av metodene, som på engelsk med et fellesnavn kalles "assignment tests" (tilhørighetsanalyser), kan enkeltfisk identifiseres til korrekt bestand. Slike metoder har lenge vært i bruk på stillehavslaks, og i det siste har de også blitt testet med loven- de resultater på torsk i Nordsjøen/Østersjøen og på laks i Østersjøen.

Identifisering av torsk fra Lofoten

I 2002 ble det startet en omfattende genetisk kartlegging av torsk langs norskekysten. Her samarbeidet Havforskningsinstituttet med Norges fiskerihøgskole i Tromsø, og i noen grad også med russiske institusjoner. I perioden frem til i dag er det samlet inn over 7000 prøver fra 70 lokaliteter langs hele kysten. Materialet er analysert både for de mer tradisjonelle genmarkører (blodproteiner; vevsenzymer) og nye DNA-markører (mikrosatellitter; *Pan I*). Resultatene er for tiden under statistisk behandling.



Figur 2.2.1.1

Fordeling av kysttorsk (grønn) og skrei (rød). Fordelingen er basert på 13 ulike markører (hemoglobin, allozymer, mikrosatellitter, *Pan I*). De fem stasjonene merket som firkanter er stasjoner som ble brukt som referanseprøver (basispopulasjoner) i tilhørighetsanalysene.

Distribution of coastal (green) and Northeast Arctic cod (red). The distribution is based on 13 markers (hemoglobin, allozymes, micro satellites, and *Pan I*). The five stations indicated with a square are the stations used as baseline in the assignment tests.

En vesentlig del av prøvematerialet er tatt i Lofoten i gytetiden, og prøvene som ble samlet inn fra dette området i 2002 og 2003 ble valgt ut for å teste de nye MSA-metodene. Formålet var å se i hvilken grad de kan brukes til å skille mellom kysttorsk og skrei i blandingsfangster. Det ble i alt brukt prøver fra 12 trålhal, hvorav noen var tatt på utsiden (Røstbanken og Moskenesbanken), mens de innerste prøvene var tatt på Hølla utenfor Svolvevør og i Henningsværstraumen (Figur 2.2.1.1). I alt ble det analysert for 13 ulike genmarkører, inkludert hemoglobin (HbI), allozymer, mikrosatellitter og *Pan I*. Totalmaterialet ble testet for genetisk differensiering, og for i alt seks ulike genmarkører ble det funnet statistisk sikre (signifikante) forskjeller mellom prøveområdene. Testene på genetisk likevekt i totalmaterialet (Hardy-Weinberg likevekt) viste dessuten betydelige avvik, noe som indikerer at prøvene er tatt fra to eller flere genetisk sett ulike bestander.

Graden av genetisk differensiering i et prøvemateriale og mellom enkeltprøver blir vanligvis angitt ved estimering av såkalte Fst-verdier, som gir et mål for hvor store genetiske forskjeller det er i et prøvemateriale. Disse kan også bestemmes for den enkelte genmarkør og dermed angi hvilke markører som er mest informative med hensyn til å avdekke genetiske forskjeller. I dette testmaterialet var Fst-verdien for *Pan I* (alle prøver) 0,33. Verdien lå svært høyt over tilsvarende verdier for andre markører.

Imaterialet fra Lofoten inngikk ikke “rene” prøver av skrei eller kysttorsk som kunne brukes som referansebestander i de statistiske testene. Tre av trålhalene på utsiden av Lofoten var imidlertid dominert av skrei (otolittanalyser), mens to prøver fra Hølla / Henningsvær hovedsakelig bestod av kysttorsk (angitt med firkanter i Figur 2.2.1.1). Disse prøvene ble derfor benyttet som referanseprøve på henholdsvis kysttorsk og skrei både for “MSA” og individuell identifisering (se Figur 2.2.1.1). De genetiske forskjellene mellom disse to referanseprøvene på skrei og kysttorsk var relativt store, med en gjennomsnittlig (alle genmarkører) Fst-verdi på 0,14. En test på individuell identifisering i dette referansmaterialet viste at 95 % av individene ble korrekt gruppert.

Disse referanseprøvene ble videre brukt til å estimere sammensetningen av skrei og kysttorsk i de andre prøvene. Som vist både i Tabell 2.2.1.1 og Figur 2.2.1.1 øker andelen kysttorsk ettersom prøvene blir tatt lenger og lenger inn mot Svolvevør, hvor det var en overvekt med kysttorsk i prøven. De forskjellige statistiske programmene som ble testet med de genetiske dataene, ga alle en klassifisering som var i god overensstemmelse med otolittanalyserne. En vurdering av hvilke markører som hadde størst betydning i de individuelle tilhørighetsanalysene, viste at *Pan I* og to av mikrosatellittene var mest informative.

Fremtidig bruk i forvaltningen?

MSA og individuell identifisering av enkeltfisk til ulike bestander brukes i dag som et viktig verktøy i fiskeriforvaltning, særlig på stillehavslaks. Metodene utvikles stadig, og nye genmarkører (særlig SNP-er) er nå under integrering i forvaltningen.

Bruken av de samme statistiske metodene i analyser av torsk i Lofoten viser helt klart potensialet og mulig anvendelse på marine arter. Et vesentlig element med hensyn til torsk er å etablere mest mulig realistiske og “rene” referanseprøver, både når det gjelder skrei- og kysttorskbestander. Tidligere er det vist at det er store genetiske forskjeller mellom skrei og kysttorsk i *Pan I*-systemet. Dette er fullt ut i overensstemmelse med resultatene beskrevet her, og *Pan I* er klart mest informativ både med hensyn til blandete bestander og den individuelle identifiseringen. I tillegg er flere av mikrosatellittene og til dels også HbI (hemoglobin) informative markører. En utfordring vil nå være å utvikle de tekniske *Pan I*-analysene slik at de blir mer operative, gjerne tilpasset feltmessig bruk. Utstrakt bruk i forvaltningen forutsetter teknisk enkle og ikke minst tidsbesparende metoder der resultatene kan foreligge så raskt som mulig.

Assignment of cod in mixed stocks fisheries

Sustainable management of the fish resources relies upon knowledge recruitment and catches, and fishing on mixed stocks is a challenge for e management. A so-called weak stock is especially vulnerable in a fishery on mixed stocks. Management of the Pacific salmon is a success story about management of mixed stocks, and the method used in this fishery (“Genetic Stock Identification” and the more modern “Mixed Stock Analyses”) has also been tested on cod in the North Sea/Baltic Sea region, as well as on salmon in the Baltic. Normally a sample from a mixed stock fishery is analyzed using many genetic markers, and the obtained genetic profiles are then compared with existing profiles from reference or baseline populations. Sophisticated statistical methods (maximum likelihood; Bayes statistics) calculate the proportion of each stock in the mixed sample. Some of the methods (assignment tests) can assign single individuals to the correct stock.

In 2002 a large program was initiated to study the genetic composition of cod along

the Norwegian coast. This cooperation between the Institute of Marine Research, the Norwegian College of Fisheries Science and to some degree Russian institutions resulted in samples of more than 7 000 individuals from 70 locations. The samples are analyzed for both the more traditional markers (hemoglobin and allozymes) and new DNA markers (micro satellites and *Pan I*). Statistical analyses are underway.

Utilisation of statistical analysis of cod in the Lofoten area clearly shows the potential and possibility for using Mixed Stock Analysis on marine species. It is, however, important to establish clean baseline populations on both the Northeast Arctic and coastal cod. Both in this and previous studies the *Pan I* genetic marker system has been the most informative for discriminating between the two cod stocks, both in a Mixed Stock Analyses and in individual assignment. In addition several of the micro satellites and also hemoglobin are informative markers. The challenge in the future is to develop the *Pan I* analysis as a more “user friendly” technique, to be used in field situations as well as onboard a research vessels.

Stasjon nummer	Dato	Posisjon	Skrei (%)	Kysttorsk (%)
236	30.03.2003	N 67,998; E 13,328	64,9	35,1
247	27.03.2002	N 68,1583; E 14,4567	29	71
249	29.03.2002	N 68,0672; E 13,8153	45,9	54,1
250	30.03.2002	N 67,9783; E 13,2887	42,7	57,3
253	30.03.2002	N 67,4953; E 12,3102	75,7	24,3
254	31.03.2002	N 67,443; E 12,0777	86,8	13,2
255	31.03.2002	N 67,4133; E 12,0167	97,1	2,9

Tabell 2.2.1.1

Oversikt over blandingsprøver av torsk samlet inn i Lofoten i 2002 og 2003 (se Figur 2.2.1.1). Andelen kysttorsk og skrei er estimert ved bruk av tilhørighetsanalyser. *Mixed samples of cod collected in the Lofoten area in 2002 and 2003 (see Figure 2.2.1.1). The percentage of coastal (“kysttorsk”) and Northeast Arctic cod (“skrei”) is estimated using assignment statistics.*