

## GENTRANSPORT FRA OPPDRETTSLAKS TIL VILLAKS

ØYSTEIN SKAALA,  
SEKSJON FOR GENETIKK OG HAVBRUKSØKOLOGI,  
HAVFORSKNINGSINSTITUTTET  
TLF: 53473523, 94549448  
E-POST: OYSTEIN.SKAALA@IMR.NO

### BAKGRUNN

Gjennom de siste 20 år er det satset betydelige ressurser på FoU arbeid for å utvikle norsk havbruk, og næringen har nå et betydelig omfang.

I *Miljømål for norsk havbruk*, utarbeidet av samtlige forvaltningsetater og næringen i fellesskap, og i *Havbruksmeldingen* (St.meld. 48 1994-95) er rømming og mulige genetisk påvirkning på ville bestander rangert som et av de tyngste miljøproblemene knyttet til havbruk. Etterhvert har også disse spørsmålene fått atskillig oppmerksomhet internasjonalt. I denne forbindelse har både havbruksforvaltning og norsk havbruksnæring hatt en bekymringsfull lav profil. Uten en styrking av kompetansen på området, vil det ikke være mulig å evaluere effekten av forvaltningsmessige tiltak rettet mot rømming og genpåvirkning fra oppdrett. **Dette er av Fiskeridep. omtalt som et økende problemområde der aktiviteten må intensiveres.**

Det er et uttrykt ønske fra næring og forvaltning om å kunne karakterisere norske avlslinjer genetisk, slik det alt gjøres for andre kulturorganismer. De samme metoder kan brukes som markører for familier og individer, og derfor være sentrale i produksjon og avl. Nye molekylargenetiske metoder gir også en helt ny anledning til å kombinere kvantitativ og kvalitativ genetikk og således studere grunnleggende evolusjonære problemstillinger som naturlig seleksjon og fitness. Havforskningsinstituttet har en rådgiverfunksjon overfor fiskeri- og havbruksforvaltningen. Kunnskap om genetisk diversitet innenfor og mellom de enkelte oppdrettslinjer, og hvordan denne forandrer seg over tid i norsk havbruk, og eventuelt påvirker ville bestander, er en grunnleggende forutsetning for å oppfylle rådgiverfunksjonen.

Mer enn 70% av genmaterialet i norsk lakseoppdrett stammer fra Aqua Gen AS (Norsk lakseavl). Fire linjer (årspopulasjoner) ble etablert mellom 1971 and 1974 fra totalt 40 familier fra 40 norske laksestammer. Selvom det foreligger en god dokumentasjon på de kvantitative egenskapene hos norsk oppdrettslaks (Gjæen 1989; Gjedrem et al 1991), foreligger lite data på kvalitative egenskaper og på forskjeller mellom stammer, om temporære forandringer innenfor stammer da kun et mindre antal studier med fragmenterte opplysninger er rapportert (Ståhl 1987; Mjølnerød et al 1997).

Molekylargenetiske metoder er også sentrale i identifisering og forvaltning av fiskebestander. Særlig i de forbindelser der flere nasjoner beskatter felles fiskeressurser, er det viktig at alle nasjoner har felles forståelse og metode for bestandsidentifisering. Ved Havforskningsinstituttet har det siden 1960 tallet vært gjennomført populasjonsgenetiske undersøkelser på laksefisk, marine fisk og sjøpattedyr. Instituttet har nylig tatt i bruk nytt

laboratorium for molekylargenetikk. Havforskningsinstituttet må ha en tung kompetanse på området i internasjonal sammenheng for å bistå havbruksnæringen, havbruksforvaltningen og samtidig kunne ta del i den internasjonale diskusjonen rundt miljøkonsekvenser av havbruk.

## MÅL

Det overordnede målet for prosjektet er å innarbeide nye molekylargenetiske metoder i grunnforskningen, og i forbindelse med viktige forvaltningsoppgaver knyttet til havbruk og fiskeri. Et sentralt delmål er å undersøke forandringer i utvalgte laksebestander som følge av innkryssing av oppdrettslaks

## GJENNOMFØRING

Laksebestander kan beskrives genetisk ved genotypfordelinger og allelfrekvenser i variable (polymorfe) gensystemer. Innblanding av andre stammer som fx oppdrettslaks vil i noen tilfeller kunne spores ved forandringer i slike genotypfordelinger. Dette forutsetter at man har gode genetiske beskrivelser av villbestandene før innkryssing. Dette kan være et problem mange steder i dag, der man har hatt innkryssing over lengre tid. I prosjektet ved Havforskningsinstituttet (finansiert av Noregs forskningsråd) ønsker vi å ta utgangspunkt i noen få eksisterende gytebestander og sammenligne disse med DNA materiale som fins i skjellmateriale innsamlet før innkryssing av rømt laks. I tillegg vil vi sammenligne vill gytefisk med gytefisk klassifisert ved skjell/vekst/fenotype som rømt laks. Undersøkelsene består derfor av både klassiske metoder (stivelsesgel elektroforese av isoenzymkodende gener) og nyere DNA analyser (mikrosatelitt DNA).

## NOEN RESULTAT FRA ISOENZYM ANALYSENE (utklipp fra upubl. manus)

### RESULTS AND DISCUSSION

In most of the studied loci, there were no private alleles, that is alleles unique to a given population. However, quite unexpected, in NLA population 2 a slow allele at *MDH-2\** was found at a comparatively high frequency (0.127). This allele was not detected in any of the other populations, and has been observed only rarely and at very low frequencies in wild stocks (Table 1).

Also, in *ESTD\** a slow allele was found in fairly high frequency in River Neiden. This allele was not found in any of the other populations included. In North American populations this allele is found in very high frequencies or at fixation. Furthermore, Russian populations from Kola and the White Sea is highly polymorphic for this locus (Makhrov et al 1998). The apparent absence of this allele in populations south of Finmark, indicates a barrier to exchange of individuals and genes between northern populations from Finmark and Russia, and more southern populations in Norway. There is further support for this observation at another locus, the *IDHP-3\** where northern populations generally have higher frequencies of the \*116 allele than more southern populations that have been studied in Norway (Skaala et al 1998). In biological terms, this observation indicates a possible northern subgroup of populations within the Atlantic salmon species.

Due to the limitations in power of classical biochemical genetic methods such as electrophoresis of polymorphic isozyme loci, and also due to the significant number of viable salmon populations in the northern region, this observation should be further analysed and tested by using DNA markers in collaboration with Russian institutes working on this field (PINRO, SevPINRO, VIGG).

At *MEP-2\**, a locus suspected to be under influence by selection, the frequency of the \*125 allele varied much, from 0.086 up to 0.921, while in all included samples of wild populations the frequency was close to 0.5. Population 4 was approaching fixation for the \*125 allele, while population 1 was close to fixation for the alternate \*100 allele. This observation may reflect a linkage to a quantitative trait. A more detailed discussion about the potential usefulness of this locus as a quantitative marker locus is suggested.

The limited amount of gene flow among the farmed strains was illustrated by the pronounced differences in allelic frequencies among these.

Large fluctuations in allelic frequencies, caused by genetic drift in small populations, finally resulting in allelic fixation and loss of allelic variability, was observed at several loci. At *MDH-3,4\** and *IDHP-3\** rare alleles in R. Namsen and Surna were absent in the farmed derivative, and at *MEP-2\** the allelic frequency was approaching fixation in the farmed derivative, NLA-population 1. At *MDH-3,4\** all farmed strains were fixed for the \*100 allele, while in wild stocks three alleles have been reported. In one strain variability was not found at *AAT-4\** although three alleles are commonly found in wild stocks. The NLA population 1 which is based mainly on R. Namsen and R. Surna differed significantly from both of these rivers at several of the studied loci.

The level of variability varied much among samples (Tab 2). The highest variability in farmed samples (all measures) was observed in the NLA-population 2 and lowest in the NLA - population 4. Interestingly, these results agrees with previous estimates of variability based on quantitative traits (Gjøen 1989). Among samples of wild salmon, the highest variability was found in River Neiden.

Mean number of alleles were about 12% lower in farmed strains than in wild stocks, percentage polymorphic loci were 14% lower in farmed strains. Mean heterozygosity was about 17% lower in farmed strains than in wild stocks, which was unexpected, as rare alleles will contribute little to biochemical genetic heterozygosity. It is anticipated that the main bottlenecks have taken place in connection with founding of the farmed strains in the 1970's.

In strain H, a reduction in genetic variability was detected by all three measures from 1995 to 1997, with mean number of alleles (11% reduction), polymorphic loci (39% reduction) and mean heterozygosity (35% reduction). In NLA population 4, sampled in 1994 and 1998, only an insignificant change in mean heterozygosity was observed.

Fst, a measure of genetic differentiation among samples, varied strongly among loci, and was particularly high for *MEP-2\** and *ESTD\**. Average Fst over loci in the overall material consisting of both farmed and wild populations, was 0.119 compared to 0,05 or less, commonly observed among wild populations. Also *MDH-2\** and *TPI-3\** contributed with high Fst values. When farmed strains were treated separately, mean Fst was 0.161, and for *MEP-2\** it was 0.340. When wild samples were run separately, Fst values were low, apart from the value 0.161 observed for *ESTD\**.

The clustering pattern (Fig. 1) shows a major split between NLA-4 and H-97 and the rest. Interestingly, and supporting the methods, the smallest distance and tightest clustering level was observed between the two samples (1994 and 1998) of NLA-4. The high genetic distances found between the farmed strains, reflect rapid changes in allelic frequencies due

to founder effects and small population size, possibly also a linkage between *MEP-2\** and traits selected for. The occurrence of the H strain in both of the major branches of the cluster, can be due to a number of causes. According to Gjøen (1989) the NLA-4 strain is most likely based on brood stock from the H strain. Thus, the observed clustering of NLA-4 (both years) and H-97 confirms this common origin. However, the location of the 1995 sample of the H strain in the cluster, indicates gene flow from NLA-1 to the H strain, or to the 1995 brood stock of the H strain.

The observed reduced level of allelic variability in farmed strains compared to wild, and increased inter strain differences in allelic frequencies and  $F_{st}$  values, compared to wild stocks, are in accordance with expectations. On other hand, the included wild population were more uniform than expected. One exception is the northern R. Neiden. A closer study on wild populations and possibly a pairwise comparison of genotypic distribution at specific loci, but also by using DNA markers is suggested.