

**KYSTTORSK OG SKREI
I
LOFOTEN 2009**

Resultater fra DNA-typing av torsk ved bruk av PCR metode

Websaknr. 09/12473

Fiskeridirektoratet region Nordland
Fiskerikontoret i Svolvær

Mai 2009

Erun Thesen
Bioingeniør/Inspektør
Rapportskriver

SAMMENDRAG

I dette prosjektet har vi analysert 1 568 individer av torsk. Dette for å kartlegge sammensetningen av kysttorsk og skrei i og rundt den etablerte "Henningsværboksen", dvs. området Vågan/Vestvågøy.

Analysene viser, i den perioden prosjektet har vart, at det hovedsaklig har vært blandingsprøver med overvekt av kysttorsk i området. Dette er tredje året at fiskerikontoret i samarbeid med Havforskningsinstituttet utfører dette prosjektet.

INNLEDNING

Det ble i 2005 utført et pilotprosjekt; **Prøvetaking i Lofoten 2005** ved Geir Dahle og Eva Farestveit. Forskningsgruppe Populasjonsgenetikk og økologi ved Havforskningsinstituttet i Bergen.

En prosjektrapport ble skrevet og den er tilgjengelig på <http://www.imr.no>.

Forsker Geir Dahle, Havforskningsinstituttet i Bergen, har hatt ansvaret for opplæring og oppfølging av arbeidet som har vært gjennomført ved fiskerikontoret i Svolvær.

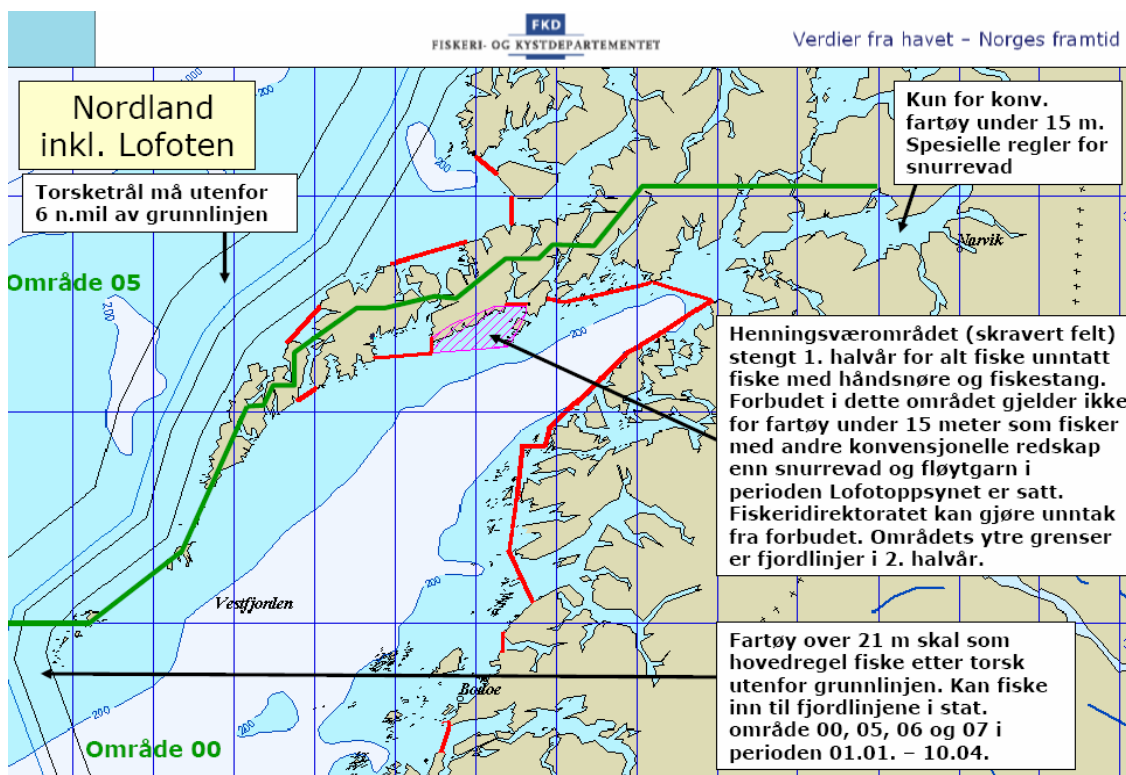
Fiskeridirektoratet ser det svært interessant å kunne gjennomføre analyser med tanke på å fastslå sammensetningen av skrei vs kysttorsk i fangstene i Lofoten.

Havforskningsinstituttet ble derfor bedt om å bidra med opplæring og tilrettelegging for at medarbeidere i Fiskeridirektoratet kunne gjennomføre slike analyser i forbindelse med fisket i Lofoten i 2007. Bistanden inkluderer kvalitetssikring/oppfølging av arbeidet og lån av nødvendig utstyr.

Vår analysevirksomhet er en oppfølging av dette, og det er tredje året vi gjennomfører dette prosjektet. **"Kysttorsk og skrei i Lofoten 2007"** og **"Kysttorsk og skrei i Lofoten 2008"**, omhandler dette arbeidet.

Fiskeri og Kystdepartementets har utformet verneplaner for kysttorsken. Vern av kysttorsk har høy prioritet og med dette analysearbeidet kan vi få inn data om hvordan forholdet mellom kysttorsk og skrei er i og rundt området "Henningsværboksen".

Nordland Fylkes Fiskarlag har også etterspurt forskningsinnsats for å få stadfestet om det er kysttorsk eller skrei i området.



BAKGRUNN

Det er mulig å skille eller typebestemme kysttorsk og skrei ved å lese forskjeller i otolittene. Dette krever erfarne lesere.

Andre genetiske metoder som variasjon i hemoglobinet og blodtype E er også blitt brukt i forsøk på å skille de to populasjonene.

PanI (tidligere *SypI*) analysene (Pogson et al. 1995, Fevolden and Pogson 1995) er basert på PCR-amplifisering (oppformering) av en spesifikk kodende del av genomet, en del av *Pantophysin* genen. Det fragmentet som blir produsert ved denne PCR reaksjonen, kuttes deretter med et spesifikt restriksjonsenzym (*DraI*). Denne metoden gir tre ulike fragmentmønstre avhengig av om torsken er genotype AA, AB, eller BB.

FORPROSJEKT/PLANLEGGING

17. februar 2009 kom seniorforsker Geir Dahle fra Havforskningsinstituttet til Fiskerikontoret i Svolvær med analyseutstyr tilsvarende det som ble brukt i 2007/2008.

Bioingeniør Erun Thesen, inspektør med bakgrunn i tidligere Distriktslaboratoriet, fikk 2 dager sammen med han til oppsetting av utstyret og gjennomgang av metode.

Utstyret han hadde med var PCR maskin, UV-lampe, elektroforesekammer m/power-supply, pipetter, kjemikalier og forbruksvarer til analysearbeidet.

Samme prøvetakingsprosedyre, utformet av Thesen i 2007, ble også brukt i år. Erun Thesen hadde ansvaret for prøveuttaket i 2009. Prøven skal tas fortløpende fra fangsten før sortering.

Prøvematerialet skal fortrinnsvis være avklippede brystfinner, og hvis det var mulig, 96 prøver fra samme fangst.

Prøven skal merkes med fangstområde, dato, fartøy, fangstredskap, prøvetaker og fraktes til Fiskerikontoret i Svolvær. Prøvene skal fryses ned umiddelbart etter uttak, eller transporteres i kjølt tilstand.

ANALYSEMETODE

Fiksering

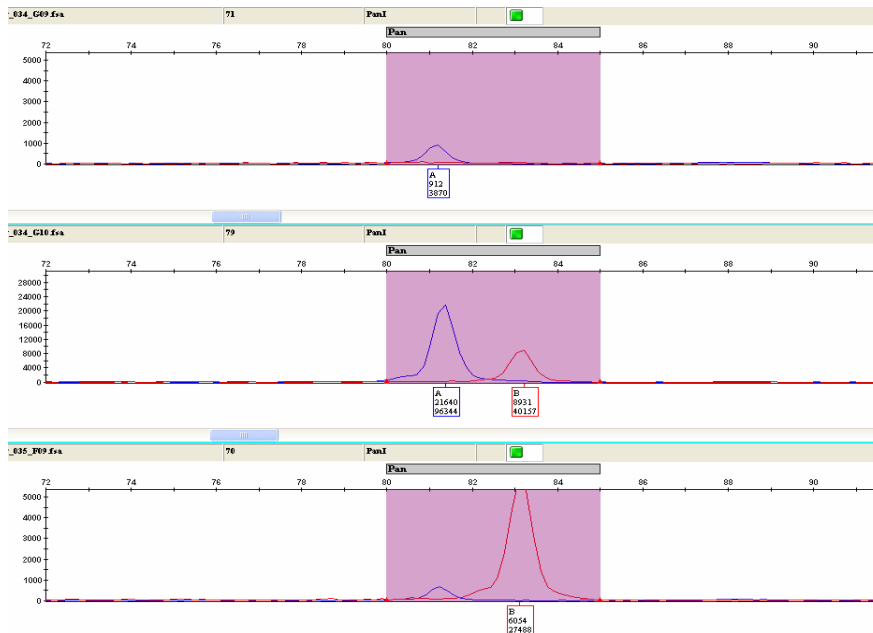
Bit av finnevevet fikseres i ren sprit.

DNA ekstraksjon/isolering.

Denne metoden er basert på bruk av en base, "Alkeline Lysis Reagent", som ved høy temperatur over en viss tid, ødelegger celler/vevet slik at DNA blir værende i løsningen. Basen blir nøytralisert med en syre, "Neutralization" buffer.

PanI analyser

På grunn av problemer med det ordinære oppsettet i Svolvær i år (2009), ble det isolerte DNA sendt til Bergen for *PanI* analyser. Her ble det brukt en ny metode som krever mer avansert laboratorie utstyr (sekvenserings maskin), men som ikke krever den tidligere restriksjonskuttingen. PCR ble gjennomført direkte på det isolerte materiale fra Svolvær med tre primere, og PCR produktene satt direkte på sekvenseringsmaskinen. Resultatene kom ut som vist på figur 1 og i form av en tabell.



Figur 1. Bildet av tre individ med genotype (ovenfra og ned): AA, AB og BB fra en sekvenserings maskin.

GJENNOMFØRING

Prøvetaksperioden er fra 16.02.09 til 22.04.09 og det ble tatt prøver av totalt 1746 stk individer/torsk, av disse er 1 598 individer analysert.

Prøvene var avklipte finner, uttatt direkte under sløying av samfengt fangst, før sortering. I uke 15 var det påske og ingen prøver ble uttatt.

Prøvemateriale er hovedsakelig fra garnfangster. Analyser i Pilotprosjektet (2005) viste at det ikke var noen signifikant forskjell mellom snurrevad og garn med hensyn på genetisk sammensetning.

Prøvetakingen ute på bedriftene og isolasjon av DNA ble utført av Erun Thesen ved Fiskerikontoret i Svolvær. Ved fiskerikontoret er det etablert et liten laboratorium i godt egnede lokaler.

Ved oppstarten av årets prosjekt, og gjennomgang av metoden, fikk vi som tidligere antydte store problemer med å få ut avlesbare resultater på analysene. Vi klarte ikke å finne årsaken og derfor ble innsamlede prøver fiksert og DNA isolert ved fiskerikontoret. Disse isolatene ble så sendt til videre analyse ved Havforskningsinstituttet i Bergen.

Av totalt 1 598 individer gav 99,6% resultat ved første gjennomkjøring, noe som er et meget godt resultat. Det finnes alltid prøver som av en eller annen grunn ikke gir noe resultat ved første gangs gjennomkjøring, og dersom prosenten ikke-fungerende prøver blir for stor >5-10% blir prøvene kjørt en gang til.

Tabell 1. En konservativ måte å beskrive resultatene:

Prøver som inneholder mindre enn 5 % B regnes som ren kysttorskprøve, mens en prøve som inneholder mindre enn 5 % A må regnes som en ren skreiprøve

Område	Uke	Dato	Prøveresultat/ Totalt antall	Redskap	% A	% B
Borgegga	8	17.02.09	0/52	Garn	x	x
Henningsværskallene	8	16.02.09	96/96	Snurvad	93,2	6,8
Henningsværstraumen	9	23.02.09	96/96	Garn	67,9	32,1
Henningsværstraumen	9	26.02.09	0/96	Garn	x	x
Henningsværstraumen	10	04.03.09	96/96	Garn	75,5	24,5
Henningsværstraumen	11	11.03.09	96/96	Garn	72,9	27,1
Henningsværstraumen	12	17.03.09	96/96	Garn	73,4	26,6
Henningsværskallan	13	23.03.09	96/96	Garn	56,8	43,2
Henningsværstraumen	14	01.04.09	96/96	Garn	48,4	51,6
Henningsværstraumen	16	14.04.09	95/96	Garn	40,5	59,5
Henningsværstraumen	17	21.04.09	95/96	Garn	64,2	35,8
Moholmen	10	02.03.09	95/96	Garn	66,8	33,2
Moholmen	13	26.03.09	93/96	Garn	43,5	56,5
Austnesfjorden	11	09.03.09	96/96	Garn	78,6	21,4
Austnesfjorden	12	19.03.09	96/96	Garn	76,6	23,4
Austnesfjorden	13	26.03.09	95/96	Garn	65,8	34,2
Austnesfjorden	14	01.04.09	96/96	Garn	66,1	33,9
Austnesfjorden	16	14.04.09	96/96	Garn	55,7	44,3
Austnesfjorden	17	22.04.09	96/96	Garn	71,9	28,1

x – ikke analysert i ettertid fordi resultatene ikke var nødvendige for helhetsbilde av situasjonen.

RESULTATER

Som det går fram av resultatene gikk andelen skrei opp både i Henningsværstraumen og Austnesfjorden i perioden, og så ut til og nå et maksimum rundt 14 april. Da ble andelen skrei i Henningsværstraumen og Austnesfjorden anslått til å være henholdsvis 55-60% og 35-40%.

Ser vi på perioden under ett så kan vi tolke resultatene slik at det er blandingsprøver med en sterk overvekt av kysttorsk i mesteparten av perioden. Bare i en liten periode ser det ut til at skreien utgjør over halvparten i Henningsværstraumen, mens andelen skrei i Austnesfjorden aldri kommer over 40%. Dispensasjon fra forbudet om fiske etter torsk i "Henningsværboksen" kan bare gis når det er tilstrekkelig store konsentrasjoner av skrei i området.

Jeg takker for bistand og velvillighet:

Seniorforsker Geir Dahle, Havforskningsinstituttet i Bergen.
De fartøyene prøvene ble uttatt fra og bedriftene i området.