

**KYSTTORSK OG SKREI
I
LOFOTEN 2007**

DNA typing av torsk ved bruk av PCR metode

Fiskeridirektoratet region Nordland
Fiskerikontoret i Svolvær

Mai 2007

Erun Thesen
Rapportskriver

SAMMENDRAG

I dette prosjektet har vi analysert ca. 1 600 individer av torsk. Dette for å kartlegge sammensetningen av kysttorsk og skrei i området Vågan/Vestvågøy. I tillegg er det uttatt prøver fra fire områder der en skulle forvente stor skreiandel.

Analysene viser, i den perioden prosjektet har vart, at det hovedsaklig har vært kysttorsk i området rundt og i "Henningsværboksen". Dette er informasjon det er viktig å bygge videre på. Vi vil vurdere om det er aktuelt å forsette dette arbeidet framover.

INNLEDNING

Det ble i 2005 utført et pilotprosjekt; **Prøvetaking i Lofoten 2005** ved Geir Dahle og Eva Farestveit. Forskningsgruppe Populasjonsgenetikk ved Havforskningsinstituttet i Bergen. En prosjektrapport ble skrevet og den er tilgjengelig på <http://www.imr.no>.

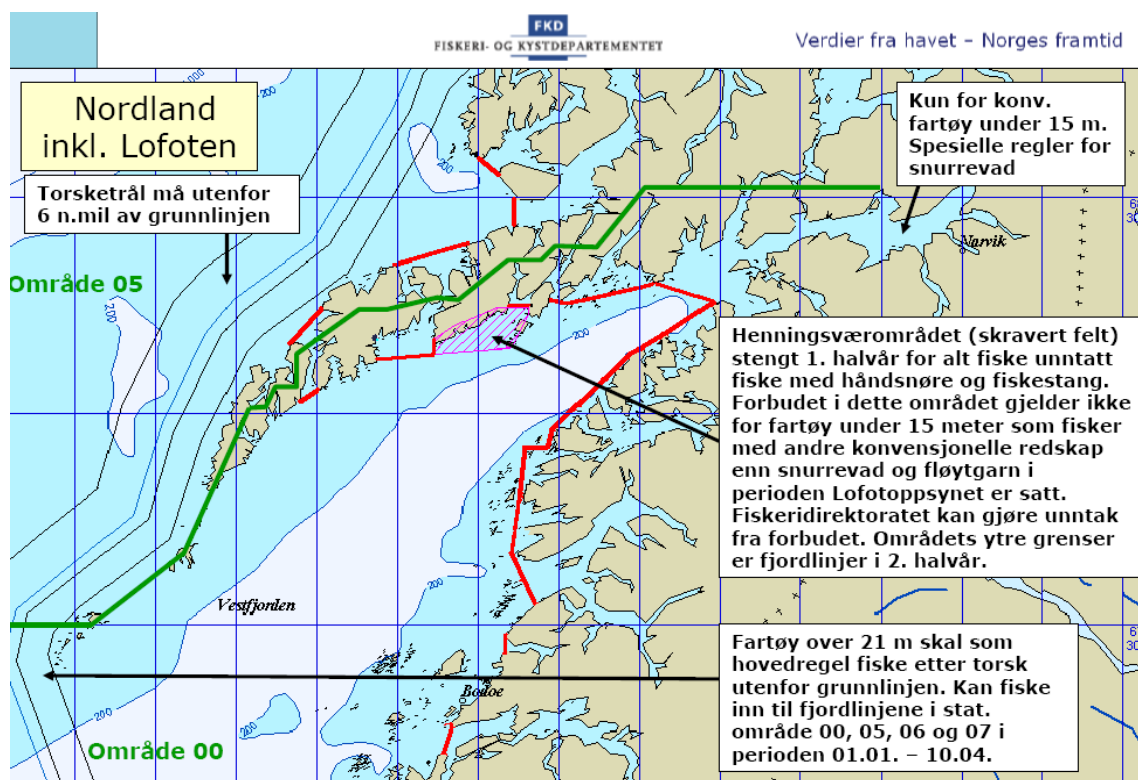
Vår analysevirksomhet er en oppfølging av dette. Geir Dahle, Havforskningsinstituttet i Bergen, har hatt ansvaret for opplæring og oppfølging av arbeidet som har vært gjennomført ved fiskerikontoret i Svolvær.

Fiskeridirektoratet så 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.

Fiskeri og Kystdepartementet har utformet verneplaner for kysttorsken. Vern av kysttorsk har høy prioritet i 2007. 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 genet. Det fragmentet som blir produsert ved denne PCR reaksjonen, kuttet deretter med et spesifikt restriksjonsenzym (*DraI*). Denne metoden gir tre ulike fragmentmønstre avhengig av om torsken er genotype AA, AB, eller BB.

FORPROSJEKT/PLANLEGGING

6.mars 2007 kom seniorforsker Geir Dahle fra Havforskningsinstituttet til Fiskerikontoret i Svolvev.

Fiskeriteknolog Mildrid Ellingsen og bioingeniør Erun Thesen, begge inspektører med bakgrunn i tidligere Distriktslaboratoriet, fikk 5 dagers opplæring sammen med han.

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

En prøvetakingsprosedyre ble utformet av Thesen og sendt med mail og SMS til alle Fiskeridirektoratets inspektører som arbeidet i området hvor vi hovedsakelig ønsket prøver fra (Vågan-Vestvågøy).

Prøven skulle tas fortløpende fra fangsten før sortering. Prøvematerialet skulle fortrinnsvis være avklippede brystfinner, og hvis det var mulig, 100 prøver fra samme fangst.

Prøven skulle merkes med fangstområde, dato, fartøy, fangstredskap, prøvetaker og fraktes til Fiskerikontoret i Svolvev raskest mulig i kjølt tilstand.

ANALYSEMETODE

DNA ekstraksjon/isolering.

Ved bruk av "Chelex-metode" og proteinase.

Denne metoden er basert på at proteinasen ødelegger cellen/vevet og Chelex'en binder opp proteinene slik at DNA blir værende i løsningen.

PCR oppformering.

Fra det isolerte DNA ble *PanI* fragmentet oppformert ved hjelp av to spesifikke primere (enkeltrådet DNA som "gjennkjenner" *PanI* fragmentet).

Restriksjonskutting.

Det oppformerte fragmentet ble blandet med ett restriksjonsenzym. Dersom det oppformerte fragmentet er av "type B" vil restriksjonsenzymet finne et såkalt "kuttsted" og dele fragmentet i to deler som. Disse to delene vil vandre like langt på en gel. Dersom restriksjonsenzymet ikke finner et "kuttsted" er fragmentet av "type A". Dette betyr at dersom begge foreldrene gav torsken "type A" så vil torsken ha ett bånd, egentlig to fragment som vandrer like langt – AA. Dersom begge foreldrene gav torsken et "type B" *PanI* vil dette også gi ett bånd, egentlig 4 like store bånd – BB. En torsk som har fått en "type A" fra den ene og en "type B" fra den andre av foreldrene vil produsere to bånd, egentlige ett bånd for "type A" og to bånd fra "type B".

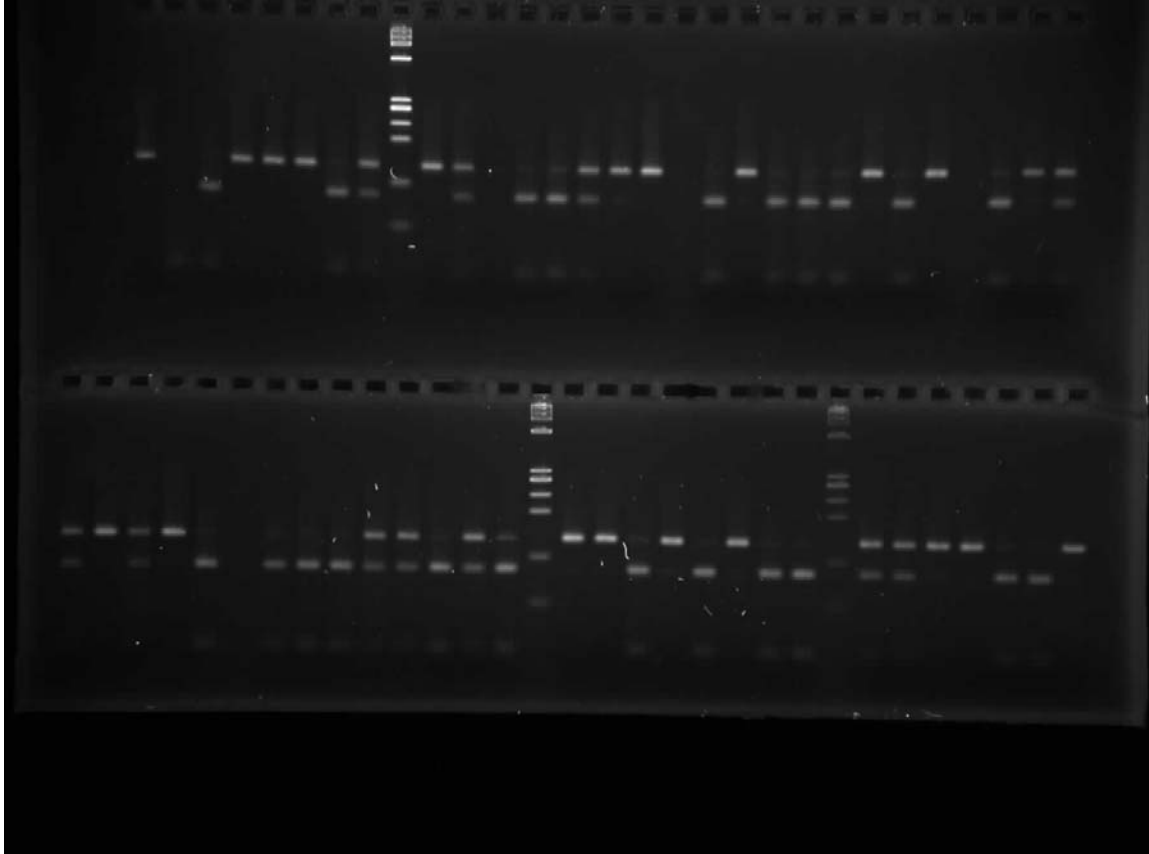
Elektroforese.

De kuttete ("type B") eller ukuttete ("type A") fragmentene ble separert ved hjelp av elektroforese i en gel som består av 2.0% MetaPhore agarose.

Avlesning.

Etter at elektroforesen har gått i 30-45 minutter, legges gelen i et Etidium Bromid bad. Etidium Bromid'en binder seg til DNA og ved hjelp av UV-lys er det mulig å se disse to båndene.

Hvordan disse plasserer seg i forhold til/avstand fra hverandre på gelen avgjør genotypen, AA, AB eller BB. Plasseringene blir registrert som resultat av PCR analysen.



Gel klar for avlesning og registrering.

GJENNOMFØRING

Da analysearbeidet startet ønsket vi også å ta inn prøver i områder vi antok det var et stort innslag av skrei. Vi tok ut prøver fra Bleiksegga (snurrevad), Værøy (line) og Røst (garn) i tillegg til prøvene fra området vi ønsket å kartlegge.

Prøvetakingsperioden ble fra 06.03.07 til 17.04.07 og det ble tatt prøver av totalt 1597 individer/torsk.

Prøvene var avklipte finner, tatt av Fiskeridirektoratets inspektører direkte under sløyning av samfengt fangst, før sortering. Unntak er Moholmen 06.03.07, der prøvemateriale er gjeller fra hoder utsortert i et kar v/N-683. og fra Bleiksegga 07.03.07, der torskene var ferdig sløyd, sortert i kar og finneprøvene ble tatt på N-717 i Svolvær.

Nordland Fylkes Fiskarlag krevde at "Henningsværboksen" ble åpnet for fartøy u/15 meter og at Fiskeridirektoratet gav dispensasjon fra forbudet om fiske i området. Dette fordi det ikke var grunnlag for å sette Lofotoppsynet i området, noe som medførte at "Henningsværboksen" ville forbli lukket hele sesongen.

Fiskeridirektoratet gav tillatelse til prøvefiske etter torsk i det særskilt vernede området i Vestfjorden ("Henningsværboksen") til region Nordland 23.03.07. Oppsynssjefen ble bedt om å gjennomføre et prøvefiske med snurrevadbåten "Harto". Valg av fartøy og redskap ble gjort etter innspill fra Nordland Fylkes Fiskarlag.

Analyser i Pilotprosjektet (2005) viste at det ikke var noen signifikant forskjell mellom snurrevad og garn med hensyn på genetisk sammensetning. Ønsket var et prøvefiske der det var viktig å få en fangst med representativ størrelsessammensetning for den fisken som var i området.

Prøvefisket ble gjennomført 26. og 27.03.07 i samarbeid med oppsynssjefen.

Oppsynssjefen tok prøver til DNA-typing av begge fangstene og Havforskningsinstituttet sitt fartøy "Amigo 2" tok prøver fra de samme fiskene for analyse av otolithene. Dermed ble to forskjellige metoder brukt for å type torsken i "Henningsværboksen".

Analysearbeidet av DNA ble gjennomført ved Fiskerikontoret i Svolvær i godt egnede lokaler. Det var hovedsakelig Erun Thesen, ved hennes fravær Mildrid Ellingsen, som utførte og registrerte resultatene på analysene.

Noen prøver gav ikke noe resultat, det dreier seg om 4,2 % av de inntatte prøvene (67 individ av totalt nesten 1600 som ble analysert, eller mellom 3 og 4 fisk pr prøve). Hva årsaken kan være er vanskelig å fastslå, men erfaringsmessig kan prøver med for mye DNA (for store biter prøvemateriale) gi dette utslaget. En suksess andel på over 95 % er klart akseptabelt.

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	Dato	Prøveantall	Redskap	% A	% B
Bleiksegga	07.03.07	94	Snurrevad	15,7	84,3
Røst	07.03.07	96	Garn	12,1	87,9
Værøy	16-17.03.07	96	Line	20,1	79,9
Nappstraumen	19.03.07	96	Garn	57,7	42,3
Moholmen	06.03.07	61	Garn	91,8	8,2
"	13.03.07	72	Garn	75,0	25,0
"	15.03.07	96	Garn	59,8	40,2
"	19.03.07	76	Juksa	82,0	18,0
"	30.03.07	64	Garn	94,1	5,9
Henningsværstraumen	19.03.07	96	Garn	90,6	9,4
"	28.03.07	96	Garn	91,7	8,3
"	02.04.07	96	Line	86,5	13,5
"	17.04.07	86	Garn	92,3	7,7
"Henningsværboksen"	26.03.07	96	Snurrevad	100,0	0
"	27.03.07	96	Snurrevad	89,6	11,2
Austnesfjorden	19.03.07	96	Garn	97,3	2,7
"	26.03.07	96	Garn	90,0	10,0
"	30.03.07	88	Garn	78,7	21,3

RESULTATER

Ut fra de analyserte prøvene kan vi kun tolke en prøve som ren kysttorskprøve mens de øvrige resultatene er blandingsprøver med en sterk overvekt av kysttorsk.

Prøvefiske i ”Henningsværboksen” ble analysert både på otolitter og genetisk på DNA. Resultatet fra disse to forskjellige metodene viste sammenfallende resultater med hensyn til % kysttorsk og skrei i de to prøvene. Analyseresultatet viste at den første fangsten kunne betegnes som en ren kysttorsk-prøve, mens den andre var en blandingsprøve (noe innblanding av skrei).

Dispensasjon fra forbudet om fiske etter torsk i ”Henningsværboksen” kan bare gis når det er tilstrekkelig store konsentrasjoner av skrei i området.

Fiskeridirektoratet region Nordland kunne dermed ikke anbefale Fiskeridirektoratet om å imøtekomme kravet fra fiskerne, og det ble heller ikke gitt dispensasjon fra forbudet om fiske i området.

Vi takker for bistand, prøveuttak og velvillighet:

Geir Dahle, Havforskningsinstituttet i Bergen

Inspektørkorpset i Nordland

Oppsynssjef Odd Steffensen

De fartøyene vi tok ut prøver fra, og kanskje forstyrret litt i sløyningen

Bedriftene i området.