GENETISKE ANALYSER AV AURE I GLOPPENELVA

Maria Quintela Sanchez (HI), Harald Sægrov Rådgivende Biologer, Geir Dahle, Kevin Glover og Vidar Wennevik (HI)

RAPPORT FRA HAVFORSKNINGEN NR. 2023-19

Tittel (norsk og engelsk):

Genetiske analyser av aure i Gloppenelva

Genetic analyses of trout in Gloppenelva

Rapportserie:	År - Nr.:	Dato:
Rapport fra havforskningen	2023-19	24.03.2023

ISSN:1893-4536

Forfatter(e):

Maria Quintela Sanchez (HI), Harald Sægrov Rådgivende Biologer, Geir Dahle, Kevin Glover og Vidar Wennevik (HI)

Forskningsgruppeleder(e): Kevin Glover (Populasjonsgenetikk)
Godkjent av: Forskningsdirektør(er): Geir Lasse Taranger
Programleder(e): Terje Svåsand

Distribusjon:

Åpen

Program:

Miljøeffekter av akvakultur

Forskningsgruppe(r):

Populasjonsgenetikk

Antall sider:

17

Samarbeid med

Rådgivende Biologer

Sammendrag (engelsk):

[Text]

Innhold

1 Introduksjon 5

2 Materiale og metoder 6

2.1 Prøvetaking 6

2.3 Statistiske analyser 7

3 Resultater og diskusjon 9

4 Konklusjoner 14

5 Referanser 15

1 - Introduksjon

I Gloppenelva ble det åpnet en laksetrapp i Eidsfossen i 1972, men trappen ble stengt i 2014 etter store skader under en flomhendelse, og det er ikke avklart om trappen skal restaureres. Inntil 1972 var Eidsfossen vandringshinder for anadrom fisk i Gloppenvassdraget. Det er ikke kjent om sjøaure vandret opp trappen og reproduserte oppstrøms i perioden 1971 til 2014, og det er ikke gjennomført kultivering med sjøaure oppstrøms Eidsfossen eller flyttet sjøaure forbi fossen (Fig. 1). For å avklare om sjøaure har vandret opp og satt genetiske avtrykk i aurebestandene oppstrøms trappen i Eidsfossen ble det gjennomført genetiske analyser av aure på elvestrekningen mellom Eidsfossen og Trøselfossen som er neste vandringshinder oppstrøms, og i sideelva Ryssdalselva på denne strekningen. Aure fra dette området ble videre genetisk sammenlignet med sjøaure fanget under sportsfisket nedstrøms Eidsfossen og fra aure fanget på gyteområdet til storaure nær utløpet av Breimsvatnet oppstrøms Trøselfossen. Når det bygges en laksetrapp antas det i utgangspunktet at gytelaks- og sjøaure vandrer opp trappen og gyter i områdene ovenfor. Fisk som har vandret nedover som smolt er trolig mer motivert for å vandre opp trappen enn fisk som er født nedenfor. I tilfeller der trappeinngangen er vanskelig å finne på grunn av uheldig plassering kan manglende motivasjon for oppvandring medføre at kolonisering av områdene oppstrøms ikke skjer eller at det tar lang tid før produksjonspotensialet blir fullt utnyttet. Etter at laksetrappen ble åpnet i Eidsfossen i 1971 ble det årlig satt ut plommesekkyngel ovenfor trappen frem til 1995, men ved undersøkelser høsten 1995 ble det ikke registrert lakseunger på området. Dette tilsa at utsette lakseunger ikke eller i liten grad hadde overlevd. Det indikerte også at det ikke hadde vandret opp laks og gytt på strekningen eller at gytingen var mislykket. Med utgangspunkt i usikker oppvandring i laksetrappen og lite eller ikke tilslag bidrag fra utsettinger av plommesekkyngel ovenfor Eidsfossen ble det flyttet gytelaks oppom fossen høsten 1995 og det ble satt i gang utlegging av øyerogn av laks i Ryssdalselva vinteren 1997. Bakgrunnen var at laksesmolt som vandret ned fra området som smolt ville ha større motivasjon til å vandre opp trappen som voksne gytelaks og gyte ovenfor. Flyttingen av laks resulterte i vellykket gyting, men rekrutteringen var meget lav. Utleggingen av øyerogn vinteren 1997 og de etterfølgende årene medførte høy produksjon av laksesmolt i Ryssdalselva og mange vandret som åryngel ut i hovedelva ovenfor fossen og bidrog til en betydelig smoltproduksjon også her. I ettertid er det dokumentert oppvandring og vellykket gyting ved flere tilfeller etter 2000, trolig av fisk som var utsatt som egg på dette området og som passerte trappen under utvandring som smolt (Hellen & Urdal 2019).

2 - Materiale og metoder

2.1 - Prøvetaking

Skjell fra sjøaure fanget på anadrom strekning ble innsamlet under sportsfisket i fiskesesongen. Fra de øvrige områdene ble aureunger med alder 0 – 3 år fanget med elektrisk fiskeapparat på to faste stasjoner i hovedelva, på tre faste stasjoner i Ryssdalselva og på et større område på den øverste delen av gyteområdet i Breimsvatnet (Tabell 1, Fig. 1).

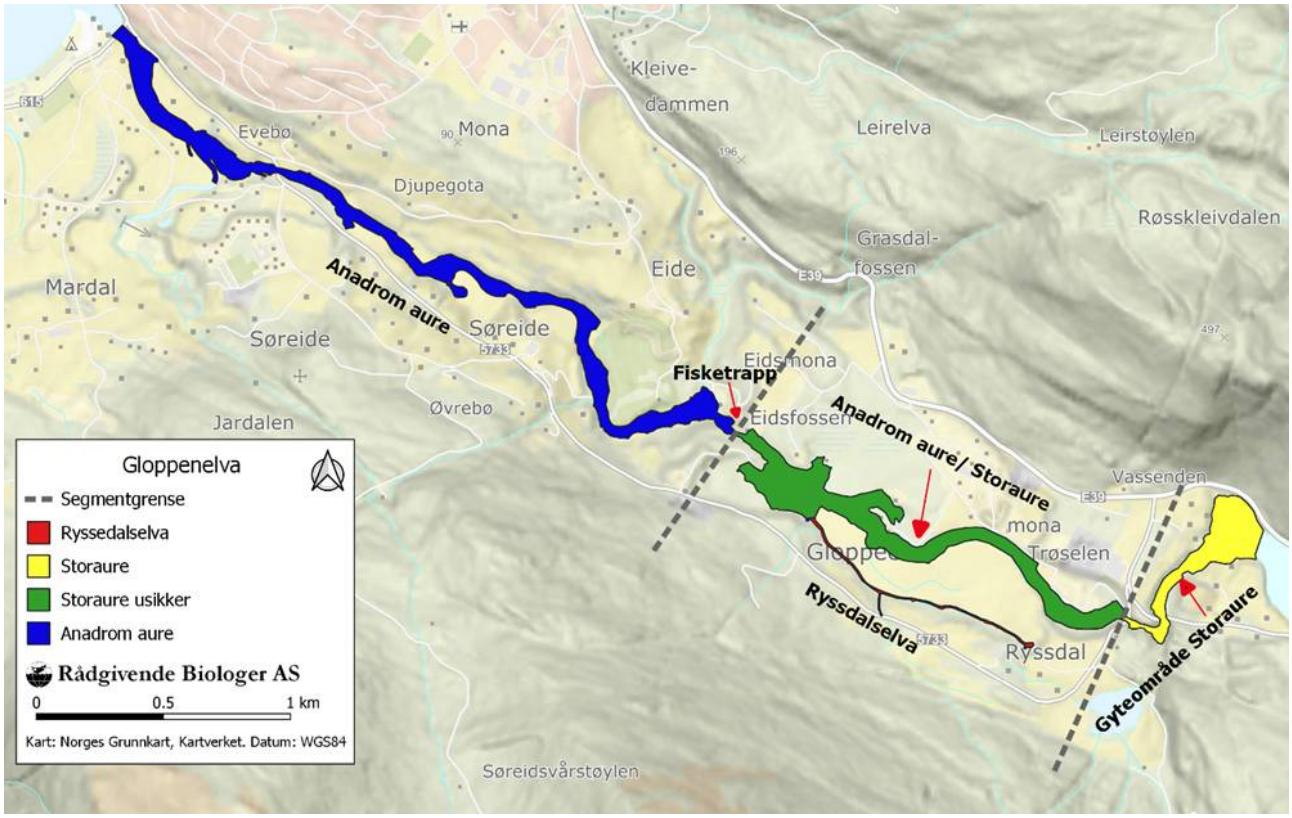

Fig 1. Delstrekninger i Gloppenelva; nederst er anadrom strekning fra sjøen og opp til Eidsfossen (blå), videre oppover strekningen mellom Eidsfossen og Trøselfossen (grønn) og øverst er gyteområdet til storauren nær utløpte av Breimsvatnet ovenfor Trøselfossen antydet med gul farge.

2.2 - DNA isolering og genotyping

DNA ble ekstrahert fra skjellprøver og finneklipp av innsamlet ungfisk med Qiagen DNeasyH96 Blood & Tissue Kit i 96-brønn plater, hver med to eller flere negative kontroller. Tjue-en genetiske markører (mikrosatelitter) ble analysert: Ssa410UOS, Ssa416UoS, Ssa408 (Cairney et al. 2000); SasaTAP2A, MHCI (Grimholt et al. 2002); Str2QUB, Str3QUB (Keenan et al. 2013); SsaD71 (King et al. 2005); mOne101, mOne102a&b (Olsen et al. 2000); Ssa197, Ssa85, (O'Reilly et al. 1996); Cocl-Lav-4 (Rogers et al. 2004); Oneμ9 (Scribner et al. 1996); SsOsl417 (Slettan et al. 1995); Ssa24NVH (Gharbi et al. 2006); Ssa87NVH (Moen et al. 2007); BS-131 (Presa & Guyomard 1996) og BG935488, CA048828, CA060177 (Vasemägi et al. 2005) i sammensatte multiplex (genotyping-betingelser tilgjengelig på forespørsel). PCR produkter ble analysert på en ABI 3730XL Genetic Analyser og fragmentstørrelsen i basepar (bp) ble beregnet med en 500LIZTM størrelsesstandard. Automatisk scorete alleler (varianter av mikrosatellittene) ble kontrollert manuelt av to forskere og, etter kvalitetskontroll, ble totalt 612 individer beholdt for videre statistiske analyser etter å ha akseptert maksimalt 12.5 % manglende genotyper. Programmet PGDSpider 2.1.1.3 (Lischer & Excoffier 2012) ble brukt til å utføre filkonvertering til forskjellige formater når det var nødvendig.

2.3 - Statistiske analyser

Totalt antall alleler og rikdom (A_r - også referert til som allelisk diversitet), dvs. en beregning av gjennomsnittlig antall alleler per locus når antall individer er korrigert for, ble beregnet med MSA (Dieringer & Schlötterer 2003). Antall private alleler (dvs. alleler som kun finnes i én prøve), observert (H_o) og forventet genetisk heterozygositet (uH_e) ble beregnet med GenAlEx (Peakall & Smouse 2006). Genotypefordelingen av hvert locus per prøve og avvik fra forventningsverdi (heterozygot underskudd eller overskudd) ble sammenlignet med forventet antall avvik fra Hardy Weinberg ved hjelp av GENEPOP 7 (Rousset 2008) i tillegg til koblingsulikevekt (LD). Begge ble undersøkt ved bruk av følgende Markov-kjedeparametre: 10000 trinn av dememorisering, 1000 kjøringer og 10000 iterasjoner per kjøring. Signifikans ble vurdert gjennom Falsk Discovery Rate (FDR) (Benjamini & Hochberg 1995).

Populasjonsstrukturen ble undersøkt ved hjelp av ulike metoder. Først, ble hovedkomponentanalyse (PCA) utført ved bruk av funksjonen *dudi.pca* i *ade4* (Dray & Dufour 2007). Manglende data ble i denne analysen erstattet med gjennomsnittlige allelfrekvenser, uten bruk av skalerte allelfrekvenser (skala = FALSE). Videre ble forholdet mellom prøvene undersøkt ved hjelp av diskriminant-analyse av hovedkomponenter (DAPC) (Jombart et al. 2010) implementert i programmet ADEGENET (Jombart 2008) hvor grupper ble definert ved hjelp av geografisk plassering av prøvene, innenfor ulike år. Kryssvalideringsfunksjon ble brukt for a beregne begge det optimale antallet hovedkomponenter og diskriminant-funksjoner som skal beholdes og derfor til å unngå overmontering av analysene (Jombart & Collins 2015; Miller et al. 2020). I tillegg, ble genetisk differensiering mellom prøver samlet inn på ulike lokaliteter testet ved bruk av parvis F_{ST} beregnet med programmet ARLEQUIN v.3.5.1.2. F_{ST} er et mål på populasjonsdifferensiering; dvs. genetisk avstand mellom populasjoner (forskjeller i allelfrekvens mellom to populasjoner) på grunn av genetisk struktur.

Større genetisk avstand mellom populasjoner betyr at det er liten utveksling av individer og liten genstrøm mellom dem. F_{ST} verdier varierer fra 0 til 1. Når verdien er null er det ingen differensiering, såkalt «panmixia», og alle individer kan i prinsippet krysse seg med alle andre individer. En F_{ST} verdi på 1 betyr at det ikke er noen utveksling av individer mellom populasjonene og de er fullstendig genetisk isolert fra hverandre. F_{ST} verdier mellom 0-0.05 har generelt blitt ansett for å indikere liten genetisk differensiering mens verdier mellom 0.05-0.25 indikerer moderat genetisk differensiering og verdier >0.25 betyr stor differensiering (Frankham et al. 2002). Men disse er omtrentlige retningslinjer fordi veldig lave F_{ST} verdier kan også representere viktige og biologisk betydningsfulle forskjeller (Knutsen et al. 2011).

Programmet STRUCTURE v. 2.3.4 ble brukt til å identifisere genetiske grupper i det innsamlede prøvematerialet. Dette programmet kan identifisere genetiske clustere/grupper i genetiske datasett ved å påvise allelfrekvensforskjeller i dataene. Programmet forsøker å finne den oppdelingen av individene i det antall genetiske clustere som gir høyest sannsynlighet. I analysen tester man et antall mulige clustere for å finne antallet grupperinger som er mest sannsynlig. STRUCTURE ble brukt med en modell som antar blanding og korrelerte allelfrekvenser uten å bruke populasjonsinformasjon i analysene. Analyser i STRUCTURE er beregningsintensive, og kjøringen ble derfor gjennomført med bruk av ParallelStructure (Besnier & Glover, 2013) noe som reduserer beregningstiden betydelig. Det ble gjort ti kjøringer med en innbrenningsperiode bestående av 100 000 replikasjoner og 1 000 000 MCMC-iterasjoner. Disse ble utført for K=1 til K=5 clustere. Resultatene fra disse analysene ble videre vurdert med to analytiske metoder for å beregne det optimale antall genetiske grupper som individene kunne deles inn i. For det første, ble ad hoc sammendragsstatistikk ΔK av Evanno et al. (2005) test beregnet. Denne testen er basert på endringshastigheten for «estimert sannsynlighet» mellom påfølgende K-verdier og tillater bestemmelse av det øverste hierarkiske strukturnivået i dataene. Analyser av resultatene fra STRUCTURE ble også videre analysert i STRUCTURESelector (Li & Liu 2018) som ble brukt for å beregne Puechmaille (2016)s fire statistikker (MedMed, MedMean, MaxMed og MaxMean) som er ansett som mer nøyaktig enn de tidligere brukte metodene for å bestemme det reelle antallet grupper. For de replikate kjøringene for den optimale verdien av k ble gjennomsnittet beregnet med CLUMPP v.1.1.1 (Jakobsson & Rosenberg 2007) ved hjelp av FullSearch algoritmen og illustrert grafisk som søylediagram. Resultater av analyser i STRUCTURE kan visualiseres som søylediagram hvor hver vertikal søyle representerer et individ, og fargene representerer tilhørighet til de ulike identifiserte clustere.

Analyser av slektskap mellom individene ble utført ved hjelp av COLONY v.2.0.5.1 (Jones & Wang 2010). I dette

programmet benyttes sannsynlighetsmetoder for å vurdere mulig slektskap mellom individer, både mulige foreldre/avkom og eventuell hel- eller halvsøsken, basert på informasjon fra de genetiske markørene som er analysert. I analysen ble det tatt høyde for polygami (dvs. en fisk kan gyte med flere andre).

3 - Resultater og diskusjon

Totalt ble 612 individer samlet inn fra fire lokaliteter (Fig. 1) fra 1998 til 2019. Genetisk mangfold målt som allelisk rikdom eller heterozygositet var veldig lik på tvers av prøvene, men noe lavere i prøven fra Vassenden (Tabell 1). Derimot var antall private alleler størst i Vassenden, noe som indikerer liten sammenheng mellom Vassenden og de andre prøvelokalitetene.

Tabell 1. Lokaliteter der det ble innsamlet prøver til genetiske analyser i Gloppenvassdraget over en 20-års periode fra 1998 til 2019, år for innsamling og antall analyserte prøver på hver lokalitet og år. For lokalitetsplassering se Fig. 1. Oppsummeringsstatistikk: allelisk rikdom (Ar) basert på et minimum antall av 8 eller 20 individer; observert (H o, gjennomsnitt ± SE) og upartisk forventet heterozygositet (u H e , gjennomsnitt ± SE); innavlskoeffisient (F IS , gjennomsnitt ± SE); avvik fra Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) på α=0.05; avvik fra Linkage Disequilibrium (LD) på α=0.05, begge før og etter False Discovery Rate (FDR)-korreksjon.

Lokalitet	År	Prøve	Antall individer	Antall alleler	Ar (N_{min}=8)	Ar (N_{min}=20)	Antall privat alleler	H_o	uH_e	F_{IS}	Avvik HWE (FDR)	Avvik LD (FDR)
Anadrom del, sjøaure	1999	GLO99S	65	202	5.5	7.6	7	0.664 ± 0.036	0.703 ± 0.036	0.050 ± 0.018	2 (0)	16 (2
Anadrom del, sjøaure	2018	GLO18S	15	147	5.6	na	2	0.689 ± 0.041	0.702 ± 0.042	-0.023 ± 0.026	0 (0)	2 (0)
Ryssdalselva	1998	RYS98	20	154	5.6	6.6	2	0.702 ± 0.044	0.711 ± 0.041	-0.014 ± 0.024	1 (0)	10 (0)
Ryssdalselva	1999	RYS99	22	168	5.8	7.8	2	0.707 ± 0.037	0.729 ± 0.036	0.002 ± 0.029	0 (0)	29 (0)
Ryssdalselva	2000	RYS00	37	184	5.6	7.6	1	0.672 ± 0.042	0.699 ± 0.040	0.026 ± 0.020	3 (1)	19 (0)
Ryssdalselva	2009	RYS09	16	139	5.3	na	0	0.649 ± 0.046	0.692 ± 0.037	0.039 ± 0.033	2 (1)	19 (2)
Ryssdalselva	2012	RYS12	16	152	5.6	na	1	0.696 ± 0.044	0.698 ± 0.040	-0.033 ± 0.037	3 (0)	5 (0)
Ryssdalselva	2014	RYS14	28	167	5.4	7.3	0	0.689 ± 0.043	0.692 ± 0.041	-0.024 ± 0.028	3 (1)	19 (1)
Gloppenelva	1998	GLO98	44	183	5.5	7.4	3	0.690 ± 0.040	0.695 ± 0.042	-0.014 ± 0.022	3 (1)	7 (0)
Gloppenelva	1999	GLO99	91	203	5.4	7.4	3	0.671 ± 0.040	0.695 ± 0.040	0.031 ± 0.018	7 (2)	18 (0)
Gloppenelva	2000	GLO00	24	159	5.3	7.2	0	0.686 ± 0.047	0.680 ± 0.042	-0.024 ± 0.027	2 (1)	10 (0)
Gloppenelva	2009	GLO09	29	175	5.6	7.6	0	0.664 ± 0.046	0.692 ± 0.044	0.025 ± 0.028	5 (1)	7 (1)
Gloppenelva	2011	GLO11	60	193	5.5	7.4	3	0.685 ± 0.045	0.701 ± 0.041	0.017 ± 0.021	3 (1)	24 (1)
Gloppenelva	2012	GLO12	15	153	5.7	na	3	0.690 ± 0.052	0.702 ± 0.046	-0.016 ± 0.031	1 (0)	5 (0)
Gloppenelva	2014	GLO14	8	110	5.2	na	0	0.726 ± 0.041	0.714 ± 0.033	-0.091 ± 0.043	0 (0)	1 (0)
Gloppenelva	2019	GLO19	67	199	5.5	7.5	3	0.697 ± 0.040	0.703 ± 0.041	-0.004 ± 0.015	5 (4)	17 (2)
Vassenden	2017	VASS17	55	165	4.8	6.4	13	0.636 ± 0.047	0.640 ± 0.047	-0.005 ± 0.018	4 (2)	13 (0)

Den første aksen av hovedkomponentanalysen (PCA) forklarte 2.6% av variasjonen og indikerte at Vassenden er isolert fra de andre prøvene som overlappet til en viss grad (Fig. 2). Den andre aksen (1.3%) bidro ikke så mye bortsett fra å støtte observasjonen fra den første aksen.

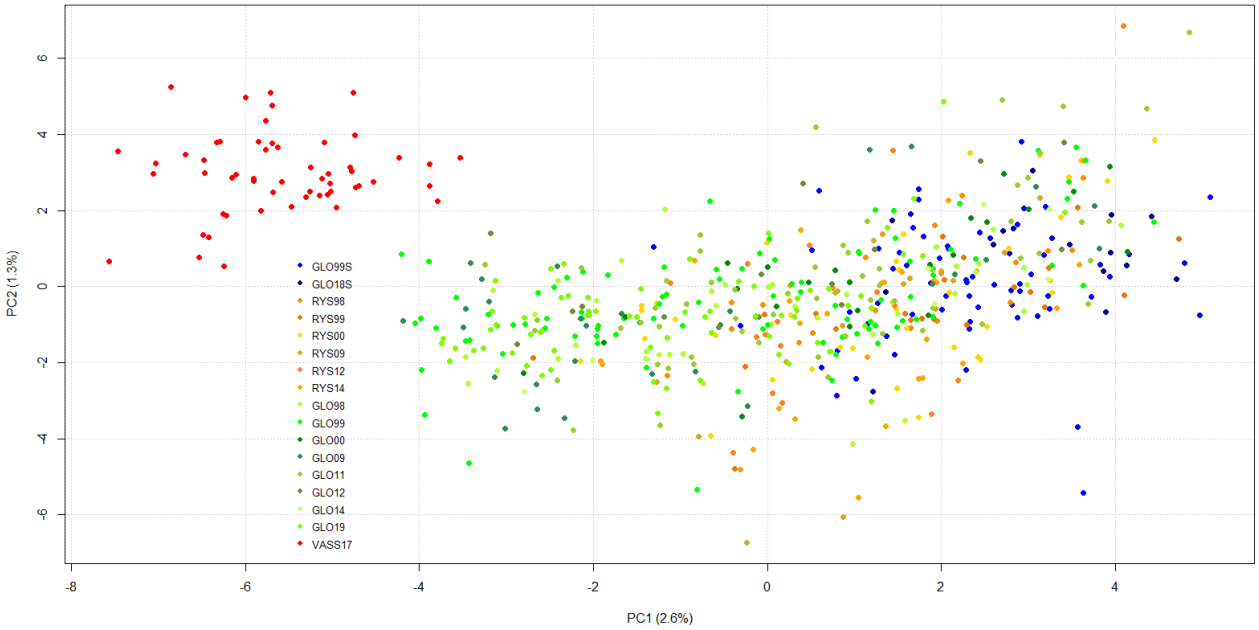

Fig 2. Hovedkomponentanalyse (PCA) av totalt 612 individer delt i tidsprøver pr elva.

I diskrimininantanalysen av hovedkomponenter (DAPC) utført med alle individer (Fig. 3a) viste at den første aksen, som forklart hele 88.5% av variasjonen, at Vassenden skilte seg klart ut fra de andre lokalitetene, noe som antyder genetisk isolasjon og liten utveksling av individer mellom denne lokaliteten og de andre lokalitetene nedstrøms. I de påfølgende analyser ble derfor Vassenden utelatt for å bedre illustrere forholdet mellom sjøørret, Ryssdalselva og Gloppenelva.

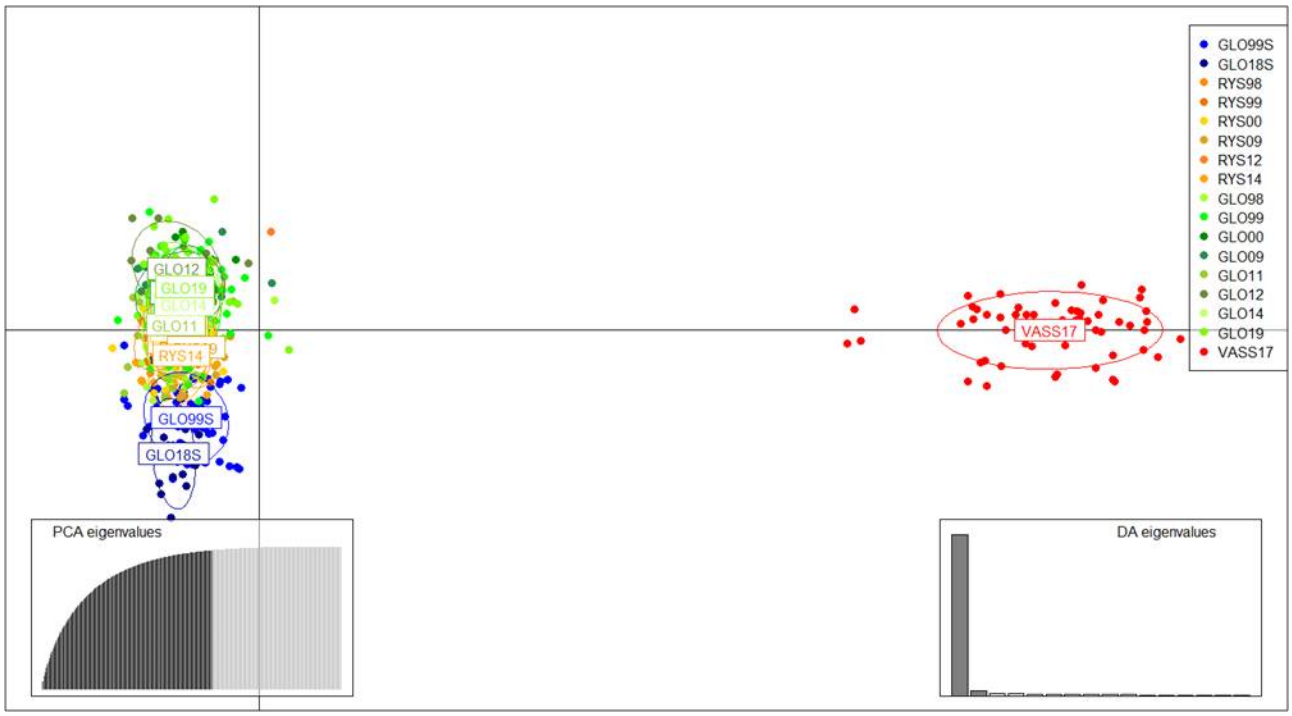

Fig 3a. Diskriminerende analyse av hovedkomponenter (DAPC). Figuren inneholder alle prøvene og etter å beholde 150 hovedkomponenter (PCs) forklarer den første aksen (PC1) 88.5% av variasjonen mens forklarer den andre aksen (PC2) bare 2.5%.

I det «trimmede» datasettet (Fig. 3b) separerte den første aksen av differensiering (20.8% av variasjonen) sjøørret fra de to andre lokalitetene som overlappet til en viss grad. Den andre aksen (10.3% av variasjonen) isolerte individer samlet i Ryssdalselva i 2009 fra resten. Med bakgrunn i mengden variasjon som hovedaksene i denne grafen forklarer, kan vi konkludere at det er en viss sammenheng mellom sjøørreten, Gloppenelva og Ryssdalselva, men det er også genetiske forskjeller mellom disse lokalitetene.

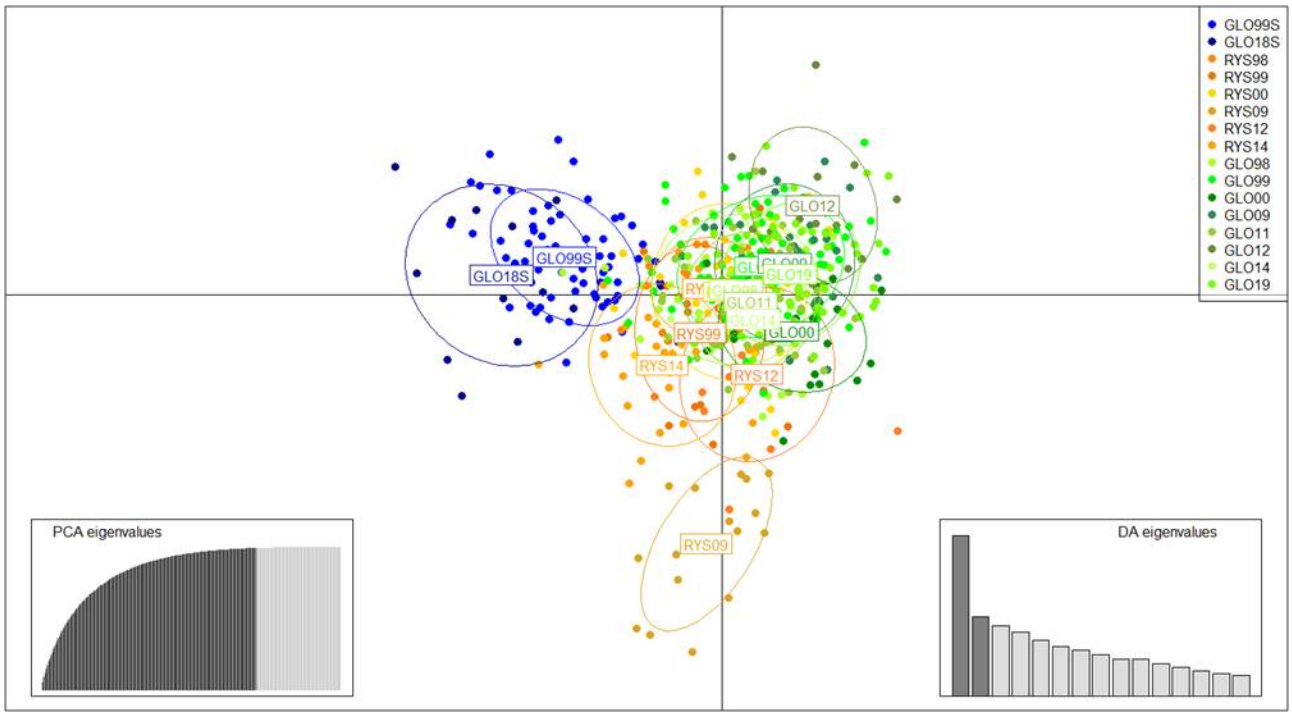

Fig 3b. Diskriminerende analyse av hovedkomponenter (DAPC). På denne figuren ble Vassenden kastet for å øke oppløsningen til de gjenværende prøvene og etter å beholde 180 hovedkomponenter forklarer den første aksen (PC1) 20.5% av variasjonen mens forklarer den andre 10.3%.

Parvise F_{ST} analyser ble utført mellom de 17 prøvene men noen av dem hadde få individer (N<25) og derfor lavere statistisk styrke (fremhevet i grå farge i Tabell 2). Den største differensiering ble observert mellom Vassenden og de andre prøvene, spesielt når Vassenden ble sammenlignet med sjøørret (særlig prøven fra 2018) mens den laveste differensieringen ble observert mellom Ryssdalselva og Gloppenelva. Prøvene fra Ryssdalselva viste ingen intern differensiering unntatt mellom de eldste prøvene (samlet inn i 1998-1999) versus de nyeste (2014). I Gloppenelva, var det forskjeller mellom den nyeste prøven (2019) og prøvene som var samlet inn i 1999, 2000, 2011 og 2014, men det var bare prøvene fra 2000 og 2009 som var signifikant forskjellig. Prøvene av sjøørret, samlet over to tiår, viste ikke noen differensiering. Når man sammenligner sjøørret med resten av prøvene, viste den parvise F_{ST} matrisen at sjøørret var signifikant forskjellig fra alle prøvene i Gloppenelva med unntak av GLO14, og også signifikant forskjellig fra alle prøvene fra Ryssdalselva som ble samlet etter 1999. Sammenligninger mellom alle de ulike prøvene fra Ryssdalselva og Gloppenelva viste alle lav og ikke signifikant differensiering.

Tabell 2. Parvise F ST verdier (genetisk distanse – nede til venstre), og tilhørende P -verdier (oppe til høyre) mellom prøvene. Varmekartet fargeområder fra mørkegrønn (ingen differensiering) mot gul-oransje og til slutt rødt som representerer høyeste differensiering. P -verdier med fet skrift skildrer betydning etter FDR-korreksjon og den tilsvarende F ST ble også uthevet med fet skrift for å lette identifiseringen. Grå viser prøver med N < 25 individer og derfor med lavere statistisk styrke.

	GLO99S	GLO18S	RYS98	RYS99	RYS00	RYS09	RYS12	RYS14	GLO98	GLO99	GLO00	GLO09	GLO11	GLO12	G
GLO99S	*	0.115	0.020	0.038	**0.000**	**0.000**	**0.006**	**0.000**	**0.000**	**0.000**	**0.000**	**0.000**	**0.000**	**0.000**	0.
GLO18S	0.005	*	0.016	0.020	**0.009**	**0.001**	**0.000**	**0.003**	**0.000**	**0.000**	**0.000**	**0.000**	**0.000**	**0.000**	**0.**
RYS98	0.007	0.013	*	0.643	0.272	0.017	0.663	**0.001**	**0.008**	**0.010**	0.060	**0.003**	0.027	0.501	0.
RYS99	0.006	0.012	0.000	*	0.323	0.248	0.334	**0.007**	**0.003**	**0.000**	**0.007**	**0.000**	**0.001**	0.171	0.
RYS00	**0.008**	**0.012**	0.002	0.002	*	0.020	0.446	0.011	0.045	**0.001**	0.352	**0.005**	**0.010**	0.193	0.
RYS09	**0.018**	**0.026**	0.015	0.005	0.012	*	0.251	0.097	**0.005**	**0.000**	**0.006**	**0.005**	**0.000**	**0.005**	0.
RYS12	**0.010**	**0.023**	0.000	0.002	0.001	0.005	*	0.246	0.755	0.543	0.349	0.541	0.393	0.603	0.
RYS14	**0.013**	**0.015**	**0.016**	**0.012**	0.008	0.008	0.003	*	**0.001**	**0.000**	**0.004**	**0.000**	**0.000**	**0.001**	0.
GLO98	**0.016**	**0.024**	**0.009**	**0.011**	0.004	**0.012**	0.000	**0.012**	*	0.825	0.060	0.599	0.300	0.310	0.
GLO99	**0.023**	**0.032**	**0.008**	**0.013**	**0.007**	**0.018**	0.000	**0.017**	0.000	*	0.022	0.486	0.013	0.900	0.
GLO00	**0.021**	**0.026**	0.006	**0.011**	0.001	**0.015**	0.001	**0.011**	0.004	0.006	*	**0.006**	0.032	0.476	0.
GLO09	**0.030**	**0.037**	**0.014**	**0.021**	**0.010**	**0.017**	0.000	**0.018**	0.000	0.000	**0.011**	*	0.088	0.370	0.
GLO11	**0.017**	**0.022**	0.007	**0.012**	**0.006**	**0.016**	0.001	**0.011**	0.001	0.004	0.005	0.004	*	0.441	0.
GLO12	**0.021**	**0.026**	0.000	0.006	0.004	**0.022**	0.000	**0.017**	0.001	0.000	0.000	0.002	0.001	*	0.
GLO14	0.015	**0.023**	0.018	0.006	0.005	0.001	0.004	0.013	0.003	0.005	0.010	0.011	0.000	0.010	*
GLO19	**0.033**	**0.043**	**0.013**	**0.020**	**0.016**	**0.023**	0.003	**0.020**	0.003	**0.005**	**0.015**	0.001	**0.007**	0.000	**0.**
VASS17	**0.105**	**0.121**	**0.090**	**0.102**	**0.089**	**0.091**	**0.075**	**0.091**	**0.064**	**0.062**	**0.083**	**0.054**	**0.068**	**0.064**	**0.**

Testene utført etter STRUCTURE analysen konkluderte med at K=4 var det det mest sannsynlige antallet genetiske grupper (clusters). Strukturdiagramet (Fig. 4) bekreftet fraværet av kobling mellom Vassenden og alle de andre prøvene. Analysen viser også at enkelte individer med genetisk profil som ligner på sjøaure påvises i Gloppenelva og Ryssdalselva, særlig i prøvene fra perioden fram til 2014. Et interessant resultat er den lave grad av innblanding funnet på individnivå: 441 individer (72%) viste en grad av tilhørighet til genetisk gruppe ≥0.8; dvs. andelen individer som tilhører bare én genetisk gruppe er over 80%.

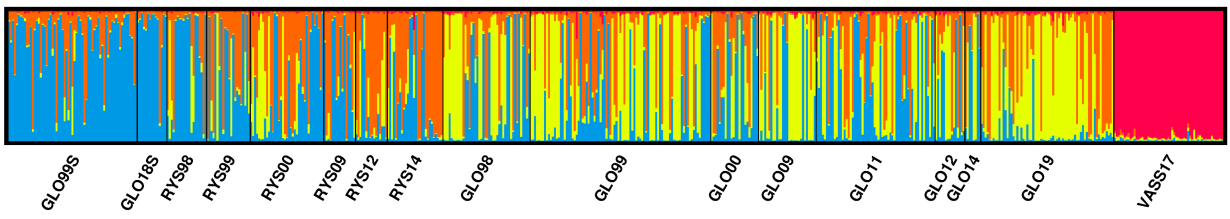

Fig 4. Strukturdiagram som viser hvordan prøvene fordeler seg i fire ulike genetiske grupper. Vassenden utgjør sin egen gruppe uten å blande seg med resten.

COLONY identifiserte 38 familier med helsøsken, 26 av dem med sannsynlighet høyere enn 0.8. Fire av disse familiene bestod av individer fra forskjellige lokaliteter og helsøsken ble funnet bare mellom Gloppenelva og Ryssdalselva. Ingen helsøskenpar ble identifisert i prøvene av sjøørret, og bare ett i Vassenden (Tabell 3). Individer klassifisert som tilhørende samme familie ble samlet inn enten i samme år eller påfølgende år. Et helsøskenpar ble

funnet i Ryssdalselva mellom individer samlet inn i 2009 og 2012; og en annen familie, også fra Ryssdalselva, bestod av individer samlet i 2009, 2012 og 2014. Mangelen på helsøsken mellom Vassenden og de resterende prøvene bekrefter at det er liten utveksling av individer mellom disse lokalitetene.

Tabell 3. COLONY resultater: Helsøsken familier med sannsynlighet for inkludering >0.8. Individer er farget liksom i PCA eller DAPC for å gjøre lette å identifisere dem. Fet skrifttype viser disse familiene med medlemmer som ble samlet mer enn ett års mellomrom.

Medlem1	Medlem2	Medlem3	Medlem4	Medlem5	Sanns (Ink.)
GLO99_377	GLO00_247				1.0000
RYS00_323	RYS00_325	RYS00_407	GLO99_417	GLO00_256	1.0000
RYS99_95	RYS99_96				1.0000
GLO11_123	GLO11_207				0.9998
RYS09_402	RYS09_445				0.9998
RYS14_190	RYS14_212	RYS14_214			0.9998
GLO11_106	GLO11_15	GLO11_18			0.9997
RYS14_166	RYS14_213				0.9997
GLO99_345	GLO99_371	GLO99_393			0.9996
RYS99_12	**RYS09_442**	**RYS14_209**			0.9996
RYS98_30	RYS99_31				0.9987
RYS98_33	RYS99_72				0.9977
RYS09_342	RYS09_412				0.9930
RYS12_61	GLO11_202				0.9921
GLO99_361	GLO99_416	GLO00_254			0.9902
GLO19_40	GLO19_51				0.9898
RYS09_328	**RYS12_39**				0.9869
RYS99_27	GLO99_307				0.9853
GLO99_303	GLO99_309				0.9799
GLO11_23	GLO11_73				0.9779
RYS98_7	RYS98_75	GLO98_144	GLO99_378		0.9649
RYS09_443	RYS09_446				0.9644
GLO19_64	GLO19_95				0.8972
RYS99_13	RYS99_42				0.8648
GLO99_392	GLO99_410				0.8365
VASSENDEN079	VASSENDEN119				0.8155

4 - Konklusjoner

Vassenden er genetisk isolert fra alle de andre prøvene som ble analysert. Vi konkluderer derfor med at fisk i denne delen av vassdraget ikke er knyttet til elvedelene nedstrøms i særlig grad. Vi kan ikke utelukke at en og annen fisk kan ha sluppet seg nedover og dermed bidratt til bestandene nedstrøms. Dette skjer sannsynligvis sjeldent, gitt de relativt store genetiske forskjellene som er observert mellom individer fra Vassenden og resten av vassdraget.

Selv om Gloppenelva, Ryssdalselva og sjøørretprøvene ser ut til å ha en viss grad av genetisk overlapp, kan disse delene av vassdraget likevel ikke betraktes som en homogen genetisk enhet (eller en homogen populasjon). Det finnes genetiske forskjeller mellom prøvene av sjøørret og prøvene samlet inn fra Gloppenelva og Ryssdalselva som Figur 3b viser. Likevel viser clusteranalysen (Fig. 4) at enkelte sjøørret kan ha brukt området ovenfor fisketrappa som gyteområde og dermed påvirket bestandene her genetisk.

5 - Referanser

Benjamini Y, Hochberg Y (1995) Controlling the False Discovery Rate: A practical and powerful approach to multiple testing. Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological) 57, 289-300.

Cairney M, Taggart JB, HØyheim B (2000) Characterization of microsatellite and minisatellite loci in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and cross-species amplification in other salmonids. Molecular Ecology 9, 2175-2178.

Dieringer D, Schlötterer C (2003) MICROSATELLITE ANALYSER (MSA): A platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. Molecular Ecology Notes 3, 167-169.

Dray S, Dufour A-B (2007) The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists. Journal of Statistical Software 22, 1 - 20.

Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2002) Introduction to Conservation Genetics Cambridge University Press, Cambidge.

Gharbi K, Gautier A, Danzmann RG, et al. (2006) A linkage map for brown trout (*Salmo trutta*): chromosome homeologies and comparative genome organization with other salmonid fish. Genetics 172, 2405-2419.

Grimholt U, Drabløs F, Jørgensen S, Høyheim B, Stet R (2002) The major histocompatibility class I locus in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): polymorphism, linkage analysis and protein modelling. Immunogenetics 54, 570-581.

Hellen BA, Urdal K (2019) Fiskeundersøkelser i Gloppenelva i 2018. Rådgivende Biologer AS, rapport 2885, 20 sider, ISBN 978-82-8308-619-5.

Jakobsson M, Rosenberg NA (2007) CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. Bioinformatics 23, 1801-1806.

Jombart T (2008) adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. Bioinformatics 24, 1403-1405.

Jombart T, Collins C (2015) A tutorial for discriminant analysis of principal components (DAPC) using adegenet 2.0.0.

Jombart T, Devillard S, Balloux F (2010) Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. BMC Genetics 11, 94.

Jones OR, Wang J (2010) COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. Molecular Ecology Resources 10, 551-555.

Keenan K, Bradley CR, Magee JJ, et al. (2013) Beaufort trout MicroPlex: a high-throughput multiplex platform comprising 38 informative microsatellite loci for use in resident and anadromous (sea trout) brown trout *Salmo trutta* genetic studies. Journal of Fish Biology 82, 1789-1804.

King TL, Eackles MS, Letcher BH (2005) Microsatellite DNA markers for the study of Atlantic salmon (Salmo salar) kinship, population structure, and mixed-fishery analyses. Molecular Ecology Notes 5, 130-132.

Knutsen H, Olsen EM, Jorde PE, et al. (2011) Are low but statistically significant levels of genetic differentiation in marine fishes 'biologically meaningful'? A case study of coastal Atlantic cod. Molecular Ecology 20, 768-783.

Li Y-L, Liu J-X (2018) StructureSelector: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. Molecular Ecology Resources 18, 176-177.

Lischer HEL, Excoffier L (2012) PGDSpider: an automated data conversion tool for connecting population genetics and genomics programs. Bioinformatics 28, 298-299.

Miller JM, Cullingham CI, Peery RM (2020) The influence of a priori grouping on inference of genetic clusters: simulation study and literature review of the DAPC method. Heredity 125, 269-280.

Moen T, Sonesson AK, Hayes B, et al. (2007) Mapping of a quantitative trait locus for resistance against infectious salmon anaemia in Atlantic salmon (*Salmo salar*): comparing survival analysis with analysis on affected/resistant data. BMC Genet 8, 53.

O'Reilly PT, Hamilton LC, McConnell SK, Wright JM (1996) Rapid analysis of genetic variation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) by PCR multiplexing of dinucleotide and tetranucleotide microsatellites. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 53, 2292-2298.

Olsen JB, Wilson SL, Kretschmer EJ, Jones KC, Seeb JE (2000) Characterization of 14 tetranucleotide microsatellite loci derived from sockeye salmon. Molecular Ecology 9, 2185-2187.

Peakall R, Smouse PE (2006) GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes 6, 288-295.

Presa P, Guyomard R (1996) Conservation of microsatellites in three species of salmonids. Journal of Fish Biology 49, 1326-1329.

Puechmaille SJ (2016) The program structure does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: subsampling and new estimators alleviate the problem. Molecular Ecology Resources 16, 608-627.

Rogers SM, Marchand M-H, Bernatchez L (2004) Isolation, characterization and cross-salmonid amplification of 31 microsatellite loci in the lake whitefish (*Coregonus clupeaformis* , Mitchill). Molecular Ecology Notes 4, 89-92.

Rousset F (2008) GENEPOP'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. Molecular Ecology Resources 8, 103-106.

Scribner KT, Gust JR, Fields RL (1996) Isolation and characterization of novel salmon microsatellite loci: Cross-species amplification and population genetic applications. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 53, 833-841.

Slettan A, Olsaker I, Lie Ø (1995) Atlantic salmon, *Salmo salar* , microsatellites at the SSOSL25, SSOSL85, SSOSL311, SSOSL417 loci. Animal Genetics 26, 281-282.

Vasemägi A, Nilsson J, Primmer CR (2005) Expressed Sequence Tag-linked microsatellites as a source of gene-associated polymorphisms for detecting signatures of divergent selection in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Molecular Biology and Evolution 22, 1067-1076.

HAVFORSKNINGSINSTITUTTET

Postboks 1870 Nordnes
5817 Bergen
Tlf: 55 23 85 00
E-post: post@hi.no
www.hi.no