



Praktisk utprøving av et system for å spore rømt oppdrettsfisk ved gentesting (mor- og farskapsanalyse) viser høy treffprosent

Det FHF-finansierte prosjektet *Tracing the origin of farmed Atlantic salmon escapees by DNA parentage assignment: optimizing methods and real-life validation studies* har prøvd ut et system for å identifisere og spore rømt oppdrettsfisk ved hjelp av en moderne genetisk metode som blant annet kan brukes for å påvise mor- og farskap. Genprofilen fra lakseyngelprøver er sammenliknet med profilene fra en stor gruppe mulige foreldre, og med opplysninger om hvilke far- og morfisk som er krysset med hverandre. Metoden bruker såkalte «SNP'er» (enkeltbase-variasjoner) for å kartlegge og sammenlikne avkommets og foreldrenes genetiske fingeravtrykk.

Tanken bak dette sporingssystemet er at hvis man registrerer og tar genetisk fingeravtrykk fra alle laksefedre og -mødre og dessuten vet hvor all befruktet rogn tar veien fram til smolten settes i sjøen, kan foreldreskaps-analysen raskt gi begrunnet mistanke om hvor en hvilken som helst rømt oppdrettsfisk kan komme fra. Dette kan gjøres helt uten å måtte merke oppdrettsfisken fysisk eller via tilsetning i fôret.

Undersøkelsene ble gjennomført med to sett anonymiserte prøver fra lakseyngel og foreldrefisk som ble stilt til rådighet av AquaGen AS. De genetiske undersøkelsene er utført ved Senter for integrativ genetikk (CIGENE) ved UMB på Ås, Biobank AS (Hamar), Norges veterinærhøgskole (Oslo) og innovasjonsnettverket MareLife (Oslo) har medvirket i prosjektet. Dessuten har Norsk Institutt for Naturforskning (Trondheim) bidratt med prøver fra villfisk. Prosjektet har samarbeidet med Nofima (Ås) om optimalisering av metodene for innledende prøvebehandling. Nofima fikk også identiske prøvesett til bruk i et parallelt FHF-prosjekt.

Utprøvingen viser at mer enn 95 % av yngelen kunne tilordnes foreldre i vedkommende prøvesett, selv om en mindre andel ikke ga entydig match mot far eller foreldrefar. For å etterlikne to «krevende» testsituasjoner ble to sett med prøver sammenstilt og anonymisert. For 496 av 520 yngel (95 %) etter nært beslektede foreldre (hel- eller halvsøsken; tabell 1)

kunne man entydig tilordne begge foreldrene, mens 45 yngel var ga tvetydig resultat (flere mulige) eller ingen match mot foreldrepanelet. Prøvesettet hadde i utgangspunktet 40 yngel som ikke var etter noen av foreldrefiskene. For 16 av yngelprøvene (2,9 %) i dette settet fikk man for få gyldige SNP-avlesninger til genprofilen. Tabell 1 viser resultatene fra studien.

Tabell 1. Resultater fra prøvesett 1 (nært beslektede foreldre) med bruk av et genetisk testpanel med 60 SNP-markører.

Kategori	Beskrivelse	Antall
Foreldreprøver		229
Yngelprøver	Avkom etter mødre og fedre i foreldregruppen	520
Yngelprøver, negativ kontroll	Avkom som ikke var etter fisk i foreldregruppen	40
RESULTATER		
Entydig tilordning	Entydig tilordning til to aktuelle foreldre	496
Ikke entydig tilordnet	Tvetydig eller ingen tilordning til noen av foreldrepærene	48
Ikke konklusiv	For få genotyper for tilordning	16

Prøvesett 2, hvor et stort antall stamfisk kom i betraktning som mulige foreldre viste liknende resultater. Her ble 241 av 279 yngelprøver (86 %) entydig tilordnet den aktuelle foreldregruppen, mens 30 fisk ikke kunne tilordnes på entydig vis. Åtte yngelprøver fra dette prøvesettet (2,9 %) ga ingen gyldig avlesning av genprofilen (tabell 2).

Tabell 2. Resultater fra prøvesett 2 (stort antall mulige foreldre) med bruk av et genetisk testpanel på 60 SNP-markører.

Kategori	Beskrivelse	Antall
Foreldreprøver		496
Yngelprøver	Avkom etter mødre og fedre i foreldregruppen	279
RESULTATER		
Entydig tilordning	Entydig tilordning til to aktuelle foreldre	241

Ikke entydig tilordnet	Tvetydig eller ingen tilordning til noen av foreldrepårene	30
Ikke konklusiv	For få genotyper for tilordning	8

Den detaljerte analysen av resultatene ga sterk mistanke om at kryssningsinformasjonen om foreldrene kan ha inneholdt feil, eller at identiteten til et fåtall prøver var forbyttet, noe som kan forklare at ikke alle avkommene kunne tilordnes riktige foreldre-kryssninger.

Til slutt ble i alt 96 vevsprøver fra villaks heimehørende i 19 norske elver (prøvesett 3) analysert uten å gi genetisk match mot noen av de 229 oppdrettsforeldrene fra den første av de ovenfor nevnte studiene. Dette viser at det er liten risiko for at ekte villaks blir feil-klassifisert som oppdrettsfisk når man bruker SNP-baserte genetisk fingeravtrykk.

Et lite antall yngelprøver ga for få SNP-avlesninger til å gi et genetisk fingeravtrykk som er detaljert nok til å sammenliknes med foreldregruppen (se tabell 1 og 2). Ved å kjøpe slike prøver samt tvetydige prøver på et utvidet antall markører (for eksempel et nytt SNP-sett med flere enn 60) vil man nokså enkelt og rimelig kunne avklare om slike ”vanskelige” prøver stammer fra noen av de aktuelle oppdrettsforeldrene.

Prosjektet har også undersøkt hvor følsom SNP-metoden er for ulike metoder for å konservere og isolere arvematerialet fra vevsprøvene. Prøver som inneholdt hud (skjell og finnebiopsier) var like gode, det samme var frysing eller konservering med etanol eller rødsprit. Det var imidlertid en viss forskjell mellom ulike laboratorier og ulike DNA-isoleringsteknikker, noe som tilsier at SNP-metoden bør standardiseres og kvalitetssikres når den skal kjøres rutinemessig.

Rapportens tittel:

Sluttrapport for FHF-prosjektnummer 900706

Full prosjektittel:

Tracing the origin of farmed Atlantic salmon escapees by DNA parentage assignment: optimizing methods and real-life validation studies.

Prosjektpartnere: Norges veterinærhøgskole (NVH), Centre for Integrative Genetics (CIGENE) ved Universitetet for Miljø- og Biovitenskap (UMB), Biobank AS, AquaGen AS og Marelife Services AS.