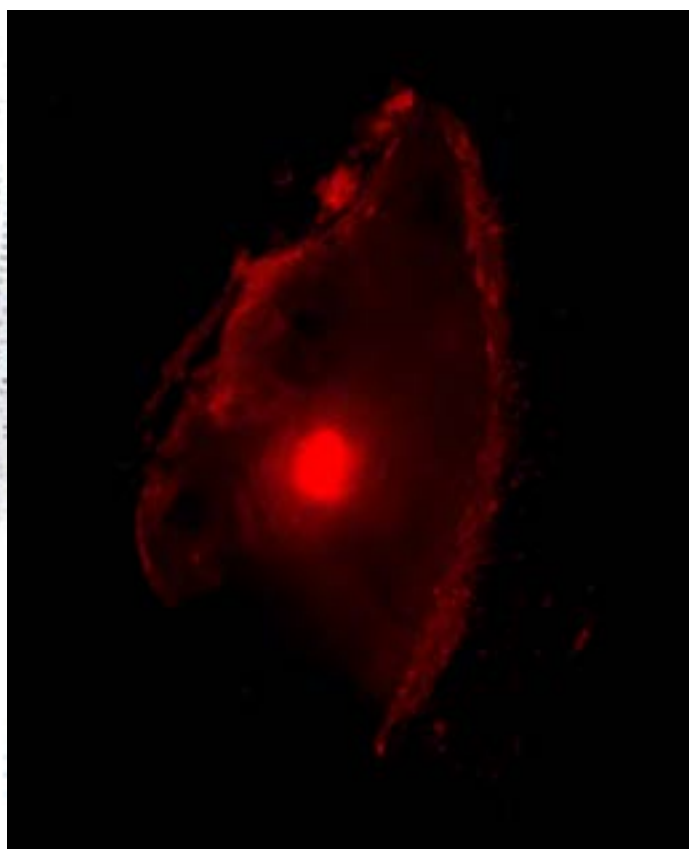


Fargemerking av lakserogn i Glomma kultiveringsanlegg, Borregaard, 2014



Hovedkontor

Gaustadalléen 21
0349 Oslo
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 22 18 52 00
Internett: www.niva.no

NIVA Region Sør

Jon Lilletuns vei 3
4879 Grimstad
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 37 04 45 13

NIVA Region Innlandet

Sandvikaveien 59
2312 Ottestad
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 62 57 66 53

NIVA Region Vest

Thormøhlensgate 53 D
5006 Bergen
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 55 31 22 14

Tittel Fargemerking av lakserogn i Glomma kultiveringsanlegg, Borregaard, 2014	Løpenr. (for bestilling) 6763-2014	Dato 15.12.2014
	Prosjektnr. Undernr. 14085	Sider 11
Forfatter(e) Espen Lund Atle Rustadbakken Torun Hokseggen (Veterinærinstituttet)	Fagområde Fisk	Distribusjon Åpen
	Geografisk område Østfold	Trykket NIVA

Oppdragsgiver(e) Borregaard Fabrikker	Oppdragsreferanse Kjersti Garseg Gyllensten
--	---

<p>Sammendrag</p> <p>Når egg- eller larveoverlevelse i substratet er begrensende for produksjon av smolt fra ei elv, vil utsetting av kunstig klekket fisk kunne virke avbøtende. Fra Glomma kultiveringsanlegget ble det våren 2014 satt ut lakseyngel merket med fargede otolitter. Fisken ble merket som øyerogn i februar–mars 2014. Fargestoff var Alizarin Red S. Merkingen var vellykket. Både kontrollmaterialet og merket fisk som ble gjenfanget i elva i september hadde otolittmerker av meget god kvalitet. Massemerkingen gjør det dermed mulig å skille settefisk fra villfisk i fangster der otolitter undersøkes med fluorescerende mikroskop.</p>

<p>Fire norske emneord</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Fiskeutsetting 2. Massemerking 3. Otolitter 4. Alizarin 	<p>Fire engelske emneord</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Fish stocking 2. Mass marking 3. Otoliths 4. Alizarin
--	--



Espen Lund
Prosjektleder



Elisabeth Lie
Forskningsleder

**Fargemerking av lakserogn i Glomma
kultiveringsanlegg, Borregaard, 2014**

Forord

Denne rapporten dokumenterer massemerking av laks i Glomma kultiveringsanlegg vinteren 2014, hvor otolitter i øyerogn ble fargemerket. Merkingen har stor verdi når laksebestanden i elva skal beskrives på grunnlag av fiskefangster, fordi man da kan skille settefisk fra villfisk i et utvalg som undersøkes i mikroskop.

Vi takker Torun Hokseggen fra Veterinærinstituttet og Kjell Cato Strand m.fl. i Nedre Glomma og Omland Fiskeadministrasjon for veldig godt samarbeid.

Oslo, desember 2014

Espen Lund

Innhold

Sammendrag	5
1. Innledning	6
2. Metode og gjennomføring	7
2.1 Metode	7
2.2 Gjennomføring	7
3. Resultater og konklusjon	8
3.1 Resultater	8
3.2 Konklusjon	9
4. Referanser	10
5. Bilder	11

Sammen drag

Tilgjengelig strekning for reproduksjon av laks i Glomma er svært kort, oppstrøms begrenset av Sarpsfossen og nedstrøms begrenset av sakteflytende elvestrekninger med saltvannspåvirkning ned mot sjøen. Dårlig rogn- eller yngeloverlevelse i elva utenfor Borregaard vil derfor ha stor betydning for den årlige produksjonen av laksesmolt fra Glomma.

På grunn av legionellasmitte ble Borregaard Fabrikker i 2008 pålagt av Helsemyndighetene å stenge trinn II, det aerobe renseanlegget. Dette medførte en økning i utslippet av lettomsattelig organisk materiale til Glomma. Dette har resultert i en bunndyrsammensetning som indikerer organisk belastning, samt en massiv oppblomstring av bakterien lammehaler (*Sphaerotilus natans*). Det antas at dette påvirker både tilgjengelighet til gytesubstrat og vanngjennomstrømning i substratene slik at overlevelsen av lakserogn og -larver har vært begrenset.

Når egg- eller larveoverlevelse i substratet er begrensende for produksjon av smolt fra ei elv, vil utsetting av kunstig klekket fisk kunne virke avbøtende. Borregaard Fabrikker bekostet derfor i 2012 etablering av et kultiveringsanlegg for settefiskproduksjon av Glomma-laks i samarbeid med Nedre Glomma og Omland Fiskeadministrasjon.

Fra kultiveringsanlegget ble det våren 2014 satt ut 105 000 stk yngel merket med fargede otolitter. Gjennom årlige lakseungetellinger ved el-fiske, vil man så kunne samle inn fisk for deteksjon av fargede otolitter blant gjenfangstene. Ut fra dette kan tilslaget fra fiskeutsettingene beregnes samt andel naturlig produsert laks i elva. Senere vil tilslaget av settefisk for den voksne populasjonen av laks i Glomma kunne beregnes gjennom innsamling av hoder fra voksne gytefisk, fanget bl.a. ved sportsfiske. Merking eller genetisk sporing av settefisk er et krav i Miljødirektoratets retningslinjer for utsetting av anadrom laksefisk.

Fargemerkingen i Glomma kultiveringsanlegg fulgte Veterinærinstituttets rutine for slik gruppemerking av fiskeegg, hvor hovedpunktene er at eggene bør være 70–90 % utviklet (øyerogn), det brukes fargestoff Alizarin Red S i konsentrasjon 200 mg/l og at tre faktorer må følges nøye under merkeprosessen: pH, temperatur og oksygen. Man vurderer også merke kvalitet på en skala 1–5 i et kontrollmateriale på 20 merkede egg.

Merkingen ble gjort i to omganger: 18. februar og 2. mars. På grunn av forskjellig innleggingsdato, ble utviklingen i eggene også forskjellig. Alle egg kunne dermed ikke merkes samtidig. Metode og utstyr fungerte etter planen. Det var stabile forhold, med god kontroll på de viktigste faktorene. Det var ikke stor dødelighet i rogn i tiden etter merking.

Både kontrollmaterialet og merket fisk som ble gjenfanget i elva i september hadde otolittmerker av meget god kvalitet. Massemerkingen gjør det dermed mulig å skille settefisk fra villfisk i fangster der otolitter undersøkes med fluorescerende mikroskop.

1. Innledning

Gjennom undersøkelser i 2009 og 2010 avdekket NIVA urovekkende lave tettheter av fisk på de antatt beste ungfiskområdene for atlantisk laks (*Salmo salar*) i Glomma ved Borregaard i Sarpsborg kommune. Dette er gyte- og oppvekstområder for laks, men også fem andre fiskearter er påvist sammen med laks ved tidligere fiskeundersøkelser i samme område (Karlsen 1997, Aasestad 2000, Aasestad 2008).

Oksygenmålinger i substratet tydet også på et overforbruk av oksygen i vannmassene (Rustadbakken m.fl. 2011). Tilgjengelig strekning for reproduksjon av laks i Glomma er svært kort, oppstrøms begrenset av Sarpsfossen og nedstrøms begrenset av sakteflytende elvestrekninger med saltvannspåvirkning ned mot sjøen. Dårlig rogn- eller yngeloverlevelse i elva utenfor Borregaard vil derfor ha stor betydning for den årlige produksjonen av laksesmolt fra Glomma.

På grunn av legionellasmitte ble Borregaard Fabrikker i 2008 pålagt av Helsemyndighetene å stenge trinn II, det aerobe renseanlegget. Dette medførte en økning i utslippet av lettomsattelig organisk materiale til Glomma. Dette har resultert i en bunndyr sammensetning som indikerer organisk belastning, samt en massiv oppblomstring av bakterien lammehaler (*Sphaerotilus natans*) (Rustadbakken m.fl. 2011, Ranneklev m.fl. 2012). Det antas at dette påvirker både tilgjengelighet til gytesubstrat og vanngjennomstrømning i substratene slik at overlevelsen av lakserogn og -larver har vært begrenset.

En betydelig organisk belastning i området stammer fra Borregaard Fabrikker, men det finnes også andre påvirkninger/kilder som reduserer laksens reproduksjonssuksess (Bremset m.fl. 2011). Ved Borregaard ble det i mars 2013 satt i drift et nytt renseanlegg med en alternativ anaerob rensemetode. I juni 2013 var anlegget fullt operativt og utslippene av organisk materiale var da på nivå med det de var i 2008, før det aerobe renseanlegget ble stengt. Det forventes imidlertid at det kreves en viss tid før de biologiske prosessene i Glomma responderer på effektene fra renseanlegget. NIVA har videre utarbeidet et tiltaksrettet overvåkningsprogram for Borregaard Fabrikkers virksomhet i nedre Glomma. Dette er utformet i henhold til Vannforskriften og slik at vi skal kunne vurdere framtidige endringer i tilstanden som følge av installasjon av nytt renseanlegg som miljøforbedrende tiltak (Ranneklev m.fl. 2013).

Når egg- eller larveoverlevelse i substratet er begrensende for produksjon av smolt fra ei elv, vil utsetting av kunstig klekket fisk kunne virke avbøtende. Borregaard Fabrikker bekostet derfor i 2012 etablering av et kultiveringsanlegg for settefiskproduksjon av Glommalaks i samarbeid med Nedre Glomma og Omland Fiskeadministrasjon (NGOFA). På oppdrag for Borregaard Fabrikker gjennomførte NIVA og NGOFA vinteren 2011–2012 et rognplantingsforsøk som også skulle være et avbøtende strakstiltak mot laksens reproduksjonstap. Resultatene fra dette bekreftet konklusjonene fra de øvrige utredningene om at elva var belastet med lettomsattelige organiske forbindelser (Rustadbakken og Lund 2013).

Fra kultiveringsanlegget ble det våren 2013 satt ut ca. 150 000 stk umerka lakseyngel (NGOFA 2013). I 2014 ble det satt ut 105 000 stk yngel merket med fargede otolitter. I 2014 ble det også satt ut 25 300 ettåringer, hvorav 24 800 ble klassifiserte som smolt (Kjell Cato Strand, NGOFA pers. med.). Alle ettåringene var fettfinneklippet, men ikke fargemerket dette året. Målet er å produsere og sette ut 150 000 stk uforet yngel + 20 000 smolt per år, der all fisk skal være merket med fargede otolitter samt at ettåringer i tillegg skal være fettfinneklippet. Foreløpig har produksjonen vært begrenset av tilgang på stamfisk. Gjennom årlige lakseungetellinger ved el-fiske, vil man så kunne samle inn fisk for deteksjon av fargede otolitter samt avlese andel fettfinneklippede laks blant gjenfangstene. Ut fra dette kan tilslaget fra fiskeutsettingene beregnes samt andel naturlig produsert laks i elva. Senere vil tilslaget av settefisk for den voksne populasjonen av laks i Glomma kunne beregnes gjennom innsamling av hoder fra voksen gytefisk, fanget bl.a. ved sportsfiske. Merking eller genetisk sporing av settefisk er et krav i Miljødirektoratets retningslinjer for utsetting av anadrom laksefisk (Miljødirektoratet 2014).

Denne rapporten beskriver fargemerkingen av otolitter i lakserogn i Glomma kultiveringsanlegg februar–mars 2014.

2. Metode og gjennomføring

2.1 Metode

Fargemerkingen i Glomma kultiveringsanlegg fulgte Veterinærinstituttets rutine for slik gruppemerking av fiskeegg (Moen m.fl. 2011):

- Eggene bør være 70–90 % utviklet (øyerogn). Dette beregnes vha. innleggingsdato og temperatur.
- Det brukes fargestoff Alizarin Red S i konsentrasjon 200 mg/l (Alizarin 2014). Eggene bades i seks timer.
- Tre faktorer må følges nøye under fargemerkingen: pH, temperatur og oksygen.
- pH er viktigste faktor for merkekvallitet. pH bør være lik 7.0. Det brukes en buffer for å stabilisere pH på denne verdi.
- pH justeres (buffer) og stabiliseres før tilsetning av egg. Tilsetning av egg gir ofte litt lavere pH.
- Jevn og tilstrekkelig oksygenkonsentrasjon sikres med utstyr for sirkulasjon og lufting av vannet.
- Det må gjøres kontroll av pH, temperatur og oksygen minst hver time, med registrering i eget skjema.
- Forhold egg/vann bør være ca. 1/5 (volum).
- Merkekvallitet vurderes på en skala 1–5. Et kontrollmateriale på 20 merkede egg blir kontrollert for merkekvallitet etter at de har klekket til fiskeyngel. Otolitter fra disse kontrolleres i fluorescerende mikroskop.

2.2 Gjennomføring

Merkingen ved Glomma kultiveringsanlegg ble gjort i to omganger: 18. februar og 2. mars. På grunn av forskjellig innleggingsdato, ble utviklingen i eggene også forskjellig. Alle egg kunne dermed ikke merkes samtidig. Stryking og innlegging av rogn ble gjort fra 3. november til 24. november 2013. Etter dette var det ca. 128 700 rogn i anlegget, med et volum på 15.6 liter (fig. 1). Telling, fjerning og registrering av døde rogn og yngel ble gjort nesten daglig i perioden fra innlegging av rogn til utsetting av fisk.

Merkingen 18. februar ble gjort i to plastbaljer a 100 liter. Det ble benyttet Alizarin som fargestoff. pH og temperatur ble målt med apparat av merke OxyGuard. For justering av pH ble det brukt tris-buffer Sigma 7-9. Det ble brukt akvarieutstyr for oksygenering (luftestein) og sirkulasjon. For justering av temperatur ble det brukt is. Lakseeggene lå i småmaskete vaskeposer i fargebadet.

De to baljene ble fylt med vann fra et av fiskekarene i anlegget: 50 liter i hver balje. Temperatur, pH og O₂ ble målt før noen tilsetninger til vannet ble gjort, se tabell 1 for registreringer 18. februar. Deretter ble 10 g Alizarin tilsatt hver balje. Etter omrøring ble buffer tilsatt, ca. en halv teskje i hver balje. Da var pH = 7.0 og vaskeposene med egg ble lagt i baljene. Vaskeposene hang på stenger som lå over baljene for å sikre vanntilgang til alle egg (se bilder side 11). Posene ble merket med hvilke grupper i anlegget eggene tilhørte, sånn at de kunne legges tilbake på samme sted i klekkeskapet.

Merketiden var seks timer, med kontroller hver time, se tabell 1. Ved to kontroller ble det tilsatt is for å senke temperaturen. Det ble tatt ut noen egg etter tre timers merking for å undersøke om merketiden kan reduseres uten å redusere merkekvalliteten.

Merkingen 2. mars fulgte samme prinsipper og brukte samme utstyr, men ble gjort i én stor balje i stedet for to mindre. Registreringer for merkingen 2. mars er gjengitt i tabell 2.

Etter klekking ble noen merkede larver kontrollert for merkekvallitet i otolittene.

Tabell 1. Kontroll av temperatur, pH og O₂ i fargebad under merking av lakserogn i Glomma kultiveringsanlegg 18. februar 2014.

	Før tilsetting	Etter tilsetting av farge	Etter tilsetting av buffer	Etter tilsetting av rogn	Etter 1 t	Etter 2 t	Etter 3 t	Etter 4 t	Etter 5 t	Etter 6 t
Balje nr. 1										
Temp. (°C)	2.7			3.0	3.6	4.2*	2.9	3.2	3.9*	2.6
pH	6.6	6.6	7.0	6.99	6.91	6.88	6.88	6.89	6.87	6.88
O ₂ (%)	109			106	100	95	97	97	98	97
Balje nr. 2										
Temp. (°C)	2.7			3.0	3.6	4.3*	3.1	3.4	4.1*	2.6
pH	6.6	6.6	7.0	7.03	6.95	6.92	6.93	6.96	6.97	6.98
O ₂ (%)	109			106	100	98	97	97	98	94

* Det ble tilsatt ca. 1 kg is etter denne måling.

Tabell 2. Kontroll av temperatur, pH og O₂ i fargebad under merking av lakserogn i Glomma kultiveringsanlegg 2. mars 2014.

	Før tilsetting	Etter tilsetting av farge	Etter tilsetting av buffer	Etter tilsetting av rogn	Etter 1 t	Etter 2 t	Etter 3 t	Etter 4 t	Etter 5 t	Etter 6 t
Temp. (°C)	2.9	2.9			3.3	3.6	3.0	3.4	3.7	3.0
pH	7.39	7.46		7.46	7.27	7.14	7.09	7.05	7.03	7.04
O ₂ (%)	111	110			105	102	99	99	98	97

3. Resultater og konklusjon

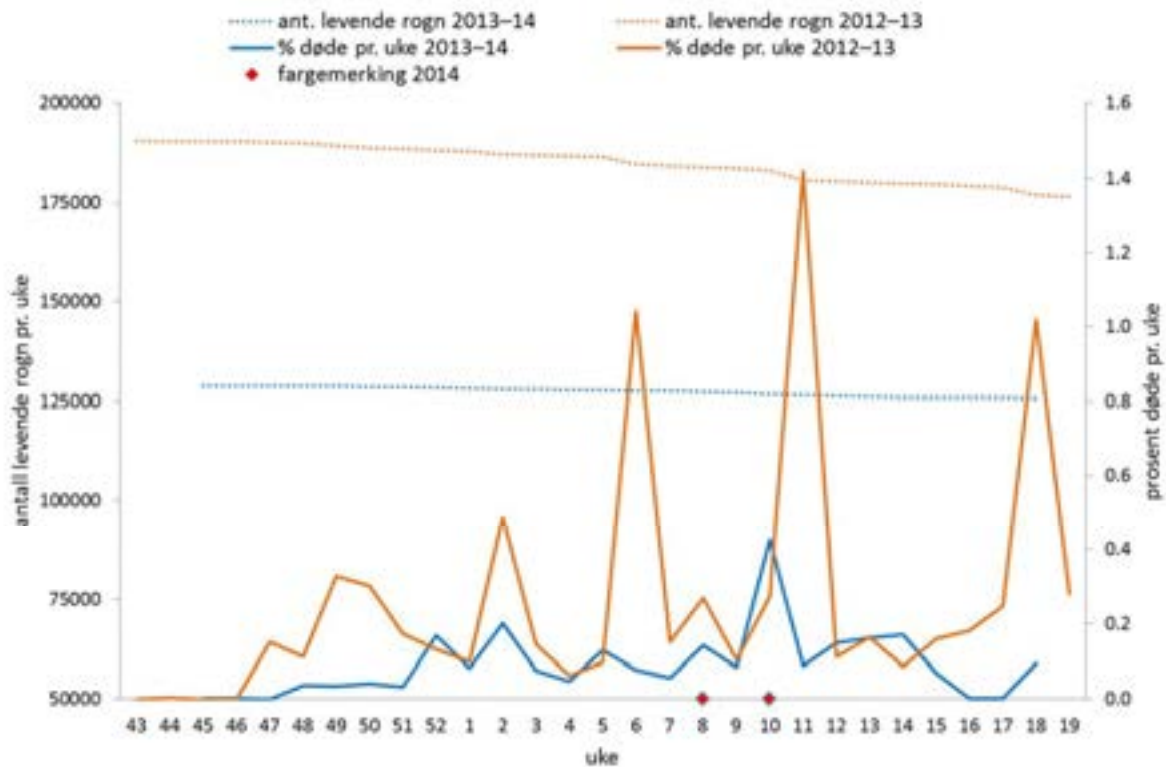
3.1 Resultater

Metode og utstyr fungerte etter planen. Det var stabile forhold, med god kontroll på de viktigste faktorene. Det var noe økt dødelighet etter siste merkedag, men deretter avtok dødeligheten igjen (fig. 1). Det var faktisk perioder med høyere dødelighet i sesongen 2012–13, da det ikke ble gjort noe fargemerking. Dødeligheten gjennom hele sesongen 2013–14 var ca. 2 % mot ca. 7 % i sesongen 2012–13.

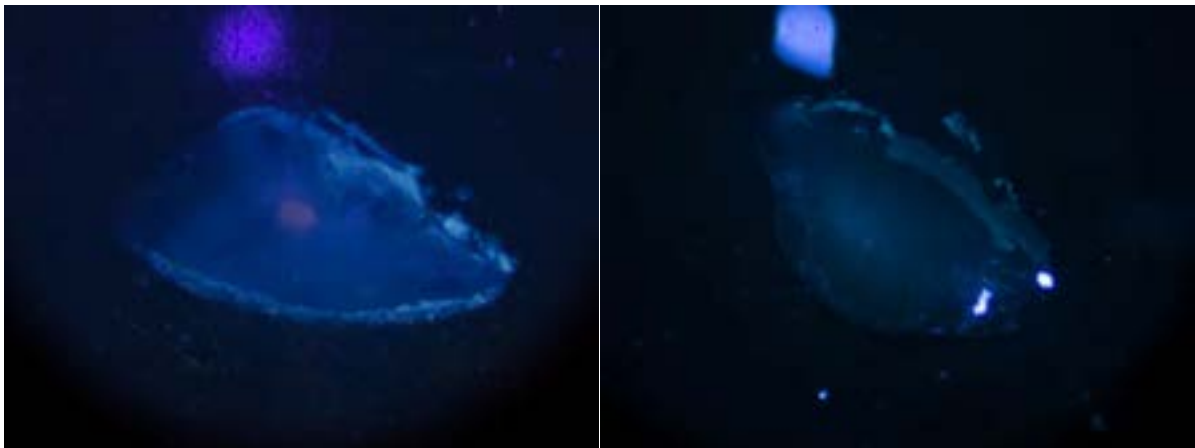
Kontroll av otolitter i merkede fiskelarver direkte fra kultiveringsanlegget (kontrollmaterialet) ga gode resultater. Larvene hadde fargemerker av god kvalitet.

Kontroll av otolitter fra larver som var merket i tre timer ga også gode resultater, de hadde god kvalitet på merkene. Dette viser at merketiden kan reduseres uten å redusere merke kvaliteten.

Kontroll av otolitter fra 34 laks fanget i Glomma i september ga tydelige indikasjoner på hvilke fisk som var settefisk (fig. 2). De detekterte merkene hadde høyeste merke kvaliteten (5). Den gode kvaliteten på merkene i både kontrollmaterialet og i fangstene tyder på at merket settefisk med stor sannsynlighet detekteres og at fisk hvor man ikke finner merker faktisk er umerket villfisk.



Figur 1. Glomma kultiveringsanlegg, sesongene 2013–14 og 2012–13: ukentlige verdier for antall levende rogn og prosent dødelighet.



Figur 2. Otolitter fra årsyngel av laks fanget i nedre Glomma i september 2014: foto i fluorescerende mikroskop. Venstre: otolitt med fargemerke i sentrum. Høyre: otolitt uten fargemerke.

3.2 Konklusjon

Merkingen var vellykket. Både kontrollmaterialet og merket fisk som ble gjenfanget i elva i september hadde otolittmerker av meget god kvalitet. Massemerkingen gjør det dermed mulig å skille settefisk fra villfisk i fangster der otolitter undersøkes med fluorescerende mikroskop.

4. Referanser

- Aasestad, I. (2000). Rapport fra el-fisket nedstrøms Sarpefossen. Naturplan, 6 s.
- Aasestad, I. (2008). Rapport fra el-fisket nedstrøms Sarpefossen og Aagaardselva, 2008. Naturplan, 11 s.
- Alizarin (2014, November 28). In Wikipedia, The Free Encyclopedia. Retrieved 14:46, December 8, 2014, from <http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Alizarin&oldid=635718574>
- Bremset, G., Olstad, K., Berg, M. og Sandlund, O.T. 2011. Effekter på laksen i Glomma av Borregaard fabrikkers aktiviteter. Skrivebordsvurdering basert på litteraturstudium og feltmålinger utført i perioden 2007-2010. NINA Rapport 670, 41 s.
- Karlsen, L. R. (1997). Rapport fra el-fiske i Glomma nedenfor Sarpsfossen den 26.08.1997. Fylkesmannen i Østfold, Fiskeforvalteren, 2 s.
- Miljødirektoratet (2014). Retningslinjer for utsetting av anadrom fisk. Veileder. M186-2014, 12 s.
- Moen V., Holthe E., og Hokseggen T. Gruppemerking av laksefisk på øyerognstadiet. - Veterinærinstituttets praksis og rutiner. Veterinærinstituttets rapportserie 1-2011. Oslo: Veterinærinstituttet; 2011.
- Nedre Glomma og Omland Fiskeadministrasjon (NGOFA). 2013. <http://www.ngofa.no/index.asp?s=artikkel&id=129>
- Ranneklev, S., Molvær, J., Lund, E., Edvardsen, H., Kile, M., Eriksen, T. og Rustadbakken, A (2012). Undersøkelserprogram for vurdering av nytt utslippspunkt og innblandingssone for avløpsvann til Glomma fra Borregaard. Norsk Institutt for Vannforskning. NIVA-rapport 6437, 42 s.
- Ranneklev, S., Kile, M., Bækken, T. og Lund, E. (2013). Tiltaksrettet overvåking i Glomma - Utslipp fra Borregaard. Norsk institutt for vannforskning. NIVA-rapport 6579-2013, 35 s.
- Rustadbakken, A., Bækken, T., Kile, M. og Haugen, T. (2011). Økologisk tilstand i Glomma nedenfor Sarpsfossen 2009-2010 - undersøkelser i forbindelse med Borregaards utslipp av organisk materiale. Norsk Institutt for Vannforskning. NIVA-rapport 6099, 30 s.
- Rustadbakken, A. og Lund, E. (2013). Forsøk med planting av lakserogn i nedre Glomma 2011-2012. Norsk institutt for vannforskning. NIVA-rapport 6488, 19 s.

5. Bilder



Bilde 1. Egg i vaskepose før fargemerking.



Bilde 2. Egg i vaskeposer før fargemerking.



Bilde 3. Fargemerking i to baljer 18. februar.



Bilde 4. Fargemerking i én balje 2. mars.



Bilde 5. Egg i vaskepose etter fargemerking.



Bilde 6. Egg tilbake i klekkeskap etter fargemerking.

NIVA: Norges ledende kompetansesenter på vannmiljø

NIVA gir offentlig vannforvaltning, næringsliv og allmennheten grunnlag for god vannforvaltning gjennom oppdragsbasert forsknings-, utrednings- og utviklingsarbeid. NIVA kjennetegnes ved stor faglig bredde og godt kontaktnett til fagmiljøer i inn- og utland. Faglig tyngde, tverrfaglig arbeidsform og en helhetlig tilnæringsmåte er vårt grunnlag for å være en god rådgiver for forvaltning og samfunnsliv.



Norsk institutt for vannforskning

Gaustadalléen 21 • 0349 Oslo
Telefon: 02348 • Faks: 22 18 52 00
www.niva.no • post@niva.no