

2400

NINA Rapport

## Genetisk overvåkning av anleggsprodusert elvemusling – infestasjoner 2021

Sebastian Wacker  
Jon H. Magerøy  
Sten Karlsson



## **NINAs publikasjoner**

### **NINA Rapport**

Dette er NINAs ordinære rapportering til oppdragsgiver etter gjennomført forsknings-, overvåkings- eller utredningsarbeid. I tillegg vil serien favne mye av instituttets øvrige rapportering, for eksempel fra seminarer og konferanser, resultater av eget forsknings- og utredningsarbeid og litteraturstudier. NINA Rapport kan også utgis på engelsk, som NINA Report.

### **NINA Temahefte**

Heftene utarbeides etter behov og serien favner svært vidt; fra systematiske bestemmelsesnøkler til informasjon om viktige problemstillinger i samfunnet. Heftene har vanligvis en populærvitenskapelig form med vekt på illustrasjoner. NINA Temahefte kan også utgis på engelsk, som NINA Special Report.

### **NINA Fakta**

Faktaarkene har som mål å gjøre NINAs forskningsresultater raskt og enkelt tilgjengelig for et større publikum. Faktaarkene gir en kort framstilling av noen av våre viktigste forskningstema.

### **Annen publisering**

I tillegg til rapporteringen i NINAs egne serier publiserer instituttets ansatte en stor del av sine forskningsresultater i internasjonale vitenskapelige journaler og i populærfaglige bøker og tidsskrifter.

# Genetisk overvåkning av anleggsprodusert elvemusling – infestasjoner 2021

Sebastian Wacker  
Jon H. Magerøy  
Sten Karlsson

Wacker, S., Magerøy, J.H. & Karlsson, S. 2024. Genetisk overvåkning av anleggsprodusert elvemusling - infestasjoner 2021. NINA Rapport 2400. Norsk institutt for naturforskning.

Trondheim, november 2022

ISSN: 1504-3312

ISBN: 978-82-426-5207-2

RETTIGHETSHAVER

© Norsk institutt for naturforskning

Publikasjonen kan siteres fritt med kildeangivelse

TILGJENGELIGHET

Åpen

PUBLISERINGSTYPE

Digitalt dokument (pdf)

KVALITETSSIKRET AV

Ingerid Julie Hagen

ANSVARLIG SIGNATUR

Forskningsjef Ingeborg Palm Helland (sign.)

OPPDRAGSGIVER(E)/BIDRAGSYTER(E)

Miljødirektoratet

OPPDRAGSGIVERS REFERANSE

M-2684|2024

KONTAKTPERSON(ER) HOS OPPDRAGSGIVER/BIDRAGSYTER

Sara Brækhus Zambon

FORSIDEBILDE

Små elvemuslinger produsert på anlegget på Austevoll, Katrine Amdal Sundt, UiB©

NØKKEWORD

- Norge
- Elvemusling
- *Margaritifera margaritifera*
- Overvåking
- Kultivering
- Ferskvann
- Trua arter
- Genetikk
- Genetisk variasjon

KEY WORDS

- Norway
- Freshwater pearl mussel
- *Margaritifera margaritifera*
- Monitoring
- Stocking
- Freshwater
- Threatened species
- Genetics
- Genetic variation

KONTAKTOPPLYSNINGER

**NINA hovedkontor**  
Postboks 5685 Torgarden  
7485 Trondheim  
Tlf: 73 80 14 00

**NINA Oslo**  
Sognsveien 68  
0855 Oslo  
Tlf: 73 80 14 00

**NINA Tromsø**  
Postboks 6606 Langnes  
9296 Tromsø  
Tlf: 77 75 04 00

**NINA Lillehammer**  
Vormstuguvegen 40  
2624 Lillehammer  
Tlf: 73 80 14 00

**NINA Bergen**  
Thormøhlens gate 55  
5006 Bergen  
Tlf: 73 80 14 00

[www.nina.no](http://www.nina.no)

## Sammendrag

Wacker, S., Magerøy, J.H. & Karlsson, S. 2024. Genetisk overvåkning av anleggsprodusert elvemusling - infestasjoner 2021. NINA Rapport 2400. Norsk institutt for naturforskning.

Elvemusling er oppført som «sårbar» på Norsk Rødliste og en betydelig andel av bestandene mangler rekruttering i nyere tid. For å sikre disse bestandene mot utryddelse ble det etablert et kultiveringsanlegg for elvemusling i Austevoll (Vestland). I denne rapporten har vi undersøkt genetisk variasjon og genetisk integritet i anleggsprodusert elvemusling fra infestasjon i 2021.

Vi vurderte genetisk variasjon og genetisk integritet for anleggsprodusert elvemusling fra fire bestander. Fra tre av disse bestandene (Flotåna, Hagneselva og Lomma), ble det innsamlet stammuslinger i en periode da muslingene er antatt å være gravide etter befruktning i elva. Denne metoden er foretrukket fordi det forventes bidrag fra et stort antall fedre ved befruktning i elva og dermed redusert tap av genetisk variasjon hos småmuslingene sammenliknet med befruktning i anlegg med et begrenset antall stammuslinger. For Haukåselva ble småmuslingene produsert ved befruktning i anlegget.

Genetisk tilstand til anleggsprodusert elvemusling klassifiseres ved et trafikklyssystem med grenseverdier for tap av genetisk variasjon og genetisk integritet. Vi bruker grenseverdier foreslått av Miljødirektoratet for klassifisering av anleggsprodusert elvemusling, men vi foreslår at disse grenseverdiene kan justeres etter hvert som flere produksjonsår blir vurdert og det foreligger et større og bedre datagrunnlag.

Genetisk integritet ble ivaretatt for alle bestandene, målt som genetiske distanse ( $F_{ST}$ ) mellom stammuslinger og avkom ( $F_{ST} < 0,05$ ) og ingen enkeltindivider viste genetisk avvik fra opphavet. Graden av innavl var ikke høyere i småmuslingene sammenliknet med stammuslingene, eller andre prøver av voksenmuslinger fra bestandene.

Produksjon av avkom fra antatt gravide muslinger, ble klassifisert som rødt for bestandene i Flotåna og Hagneselva og som grønn for bestanden i Lomma. Resultatene fra foreldretilordning tyder på at stammuslingene fra Hagneselva kan ha blitt innsamlet for tidlig og at befruktningen skjedde i anlegget. Dette er den mest sannsynlige forklaringen på at det effektive antallet stammuslinger ikke var høyere enn 16 og at avkommet hadde 25 % lavere genetisk variasjon målt som allelrikdom sammenliknet med den voksne bestanden.

Bestanden i Flotåna er en ørretmusling med lav genetisk variasjon. For Flotåna ble avkommet målt med 21 % lavere genetisk variasjon sammenliknet med bestanden og produksjonen ble klassifisert som rødt. Tap av genetisk variasjon for Flotåna kan skyldes et lavt antall mødre som bidro til småmuslingene og/eller få fedre som befruktet eggene til hver mor. Dette kan skyldes at bestanden er i dårlig tilstand. Bidrag til stammuslingene kunne ikke undersøkes videre, fordi den genetiske variasjonen i bestanden er for lav. Tap av genetisk variasjon fra bestanden til småmuslingene var < 10 % for Lomma og produksjonen ble klassifisert som grønn.

Småmuslinger for Haukåselva ble produsert ved befruktning i anlegget og med de samme stammuslingene som for infestering i 2020. Produksjonen ble klassifisert som rødt fordi 29 % av den genetiske variasjonen målt som allelrikdom ble tapt fra bestanden til småmuslingene. Videre viste slektskapsanalysen at bare 13 foreldre hadde bidratt til de undersøkte småmuslingene og at bidraget var skeivt fordelt mellom foreldrene. Det effektive antallet stammuslinger ble estimert til seks, som var lavere enn i forårets produksjon (19), og som forklarer det betydelige tapet av genetisk variasjon.

Sebastian Wacker ([sebastian.wacker@nina.no](mailto:sebastian.wacker@nina.no)), Jon H. Magerøy ([Jon.Mageroy@nina.no](mailto:Jon.Mageroy@nina.no)) og Sten Karlsson ([sten.karlsson@nina.no](mailto:sten.karlsson@nina.no)), Norsk institutt for naturforskning, Høgskoleringen 9, 7030 Trondheim.

# Innhold

<b>Sammendrag</b> .....	<b>3</b>
<b>Innhold</b> .....	<b>4</b>
<b>Forord</b> .....	<b>5</b>
<b>1 Innledning</b> .....	<b>6</b>
<b>2 Metoder</b> .....	<b>7</b>
2.1 Prøver .....	7
2.2 Genotyping.....	7
2.3 Statistisk analyse .....	7
<b>3 Resultater</b> .....	<b>9</b>
3.1 Genotyping.....	9
3.2 Genetisk variasjon i stammusling.....	9
3.3 Genetisk variasjon i småmusling.....	10
3.4 Effektivt antall stammuslinger .....	12
3.5 Genetisk integritet .....	15
<b>4 Diskusjon</b> .....	<b>18</b>
4.1 Klassifiseringssystemet.....	18
4.2 Klassifisering av produksjonen fra infestering 2021 .....	18
4.2.1 Flotåna .....	18
4.2.2 Hagneselva .....	19
4.2.3 Haukåselva.....	20
4.2.4 Lomma .....	21
4.3 Oppsummert klassifisering av 2020 og 2021 infesteringen .....	21
4.4 Betydning for forvaltning .....	22
<b>5 Referanser</b> .....	<b>24</b>

## Forord

Elvemusling (*Margaritifera margaritifera*) er listet som sårbar i norsk rødliste og som «endangered» i IUCN-red list. En stor andel av de gjenlevende bestandene finnes i Norge, men mange av disse bestandene mangler eller har dårlig rekruttering. I 2011 ble det etablert et kultiveringsanlegg for elvemusling på Austevoll, som driftes av Universitetet i Bergen på oppdrag av Miljødirektoratet. Basert på mange år med utvikling av metodikk for å avle opp elvemusling på anlegget og forskningsprosjekter for å forstå elvemuslingens parringssystem, har man i handlingsplanen for elvemusling (2019-2028) som mål å produsere avkom for utsettinger fra fem bestander hvert år. For å ivareta så mye som mulig av den eksisterende genetiske bredden i bestandene, skal det tas in 60 stammuslinger fra hver bestand. Stammuslingene bør være naturlig befruktet i vassdraget.

For å sikre at mest mulig av den genetiske variasjonen og integriteten til de ulike bestandene av elvemusling blir ivaretatt ved utsettinger, ønsker Miljødirektoratet at hver produksjon av småmuslinger blir analysert genetisk. I 2022 leverte NINA et tilbud på en anbudskonkurranse fra Miljødirektoratet om genetisk overvåkning av anleggsprodusert avkom av elvemusling, med en varighet på fire år med opsjon om ett pluss ett års forlengelse av oppdraget. NINA fikk dette oppdraget. Oppdraget går ut på å vurdere i hvilken grad de anleggsproduserte småmuslingene ivaretar bestandens genetiske integritet og genetiske variasjon, med en ambisjon om at det blir utarbeidet fungerende grenseverdier for dette. Den første evalueringen av anleggsprodusert elvemusling ble gjort for infestasjonsåret 2020 og rapportert i 2023. Her rapporterer vi evaluering av produksjonen fra infestasjonsåret 2021.

Vi takker Miljødirektoratet for oppdraget, Katrine Åmdal Sundt ved kultiveringsanlegget på Austevoll, UiB for ett godt samarbeid og innsamling av DNA prøver, samt ingeniørene ved NINAs genetiske laboratorium (NINAGEN) for DNA ekstraksjon og genotyping.

8 januar 2024, Sten Karlsson

# 1 Innledning

Elvemusling har forsvunnet fra ca. én tredjedel av de historiske lokalitetene, og en betydelig andel av de gjenværende bestandene mangler helt eller delvis rekruttering. For å fremme overlevelse av disse bestandene inntil miljøforholdene forbedrer seg, ble det etablert et kultiveringsanlegg for elvemusling i Austevoll (Vestland). Hvert år blir stammuslinger fra fem utvalgte bestander innsamlet for å produsere småmuslinger til utsetting i opphavselvene.

Et viktig mål for kultiveringsarbeidet er å sikre en videre rekruttering av bestandene samtidig som det også skal ivareta bestandenes genetiske variasjon og integritet. Genetisk variasjon er av stor betydning for enhver bestands overlevelse og tilpasningsevne (Reed & Frankham 2003, Frankham 2005, Hoffmann et al. 2017). Når miljøforholdene endrer seg er overlevelsen av bestanden avhengig av genetisk variasjon som tillater en evolusjonær tilpasning. Det er store forskjeller i genetisk variasjon mellom elvemuslingbestander i Norge. Laksemuslingbestander har alltid stor genetisk variasjon, mens ørretmuslingbestander varierer fra nesten ingen genetisk variasjon til stor genetisk variasjon (Karlsson et al. 2014, Wacker et al. 2021). Tap av genetisk variasjon forventes påvirke overlevelsen av bestander på kort og lang sikt, og undersøkelse av genetisk variasjon i forhold til økologisk tilstand har vist at elvemuslingbestander med lav genetisk variasjon og høy grad av innavl har større sannsynlighet for å mangle rekruttering (Wacker et al. 2021). Målet i kultivering er derfor å ivareta så mye som mulig av den genetiske variasjonen som finnes i bestanden.

Tidligere genetiske undersøkelser av stammuslinger og avkom i kultiveringsanlegget har vist at man kan sikre en høy grad av genetisk variasjon ved å samle inn gravide stammuslinger som har blitt befruktet i elva av mange hannmuslinger. Dette sikrer en betydelig høyere grad av genetisk variasjon i avkommet sammenliknet med om befruktning skjer mellom et begrenset antall stammuslinger i anlegget (Wacker et al. 2019). Hvor mye av den genetiske variasjonen som blir ivaretatt i avkommet vil være påvirket av antall gravide hunner som bidrar til produksjonen, i hvilken grad bidraget varierer mellom hunnene og hvor mange hanner som bidrar til produksjon gjennom befruktning av hunnmuslinger i elva.

Elvemuslingbestander i Norge har en tydelig genetisk struktur, med differensiering mellom ørret- og laksemusling og genetiske forskjeller mellom de ulike ørretmuslingbestandene (Karlsson et al. 2014, Wacker et al. 2021). Forvaltningen av elvemusling gjøres derfor på bestandsnivå, og bestandene blir kultivert hver for seg. En blanding av bestandene i kultivering vil kunne bryte ned genetiske tilpasninger til de lokale miljøforholdene hos de enkelte bestandene. Dette gjelder spesielt ørretmuslingbestander, som vanligvis er reproduktivt isolerte ovenfor vandringshindre for anadrom fisk og som derfor ikke har genetisk utveksling med andre bestander. Det er derfor også viktig å undersøke om den genetiske integriteten til bestandene blir ivaretatt i kultivering av elvemusling. Det kan være stor variasjon i produksjon av elvemusling i anlegget og det er derfor viktig å undersøke hver enkelt produksjon, som demonstrert av evalueringen gjort av den anleggsproduserte elvemuslingen fra infestasjon i 2020 (Wacker & Karlsson 2023). Evalueringen danner et viktig grunnlag for å vurdere kvaliteten av det som settes ut i elva.

I denne rapporten undersøker vi genetisk variasjon og genetisk integritet i småmuslinger fra fire bestander som ble produsert med infestering i 2021: Flotåna (Rogaland), Haukåselva (Vestland), Lomma (Viken), og Storelva/Hagneselva (Vestfold og Telemark). På grunnlag av resultatene diskuterer vi mulige grenseverdier og hva disse kan bety for den endelige effekten av kultivering på bestandene på lang sikt.



## 2 Metoder

### 2.1 Prøver

Stikkprøver av småmuslinger fra anlegget, som ble produsert ved infestering i 2021, ble innsamlet i perioden 2. juni til 6. juni 2023. Det ble tatt stikkprøver av 200 småmuslinger fra Flotåbestanden, Haukåselvabestanden og fra Hagneselvabestanden. Fordi den totale produksjonen av småmuslinger fra Lomma var relativt lav på ca. 1100 småmuslinger ble det innsamlet kun 50 småmuslinger fra denne produksjonen. Småmuslingene ble lagt i enkelrør med ATL-buffer for senere DNA ekstraksjon. Prøver av stammuslinger fra Flotåna, Lomma og Hagneselva ble tatt mellom 10. mai og 14. juni 2022 etter at de hadde bidratt til produksjon. Prøver av voksenmuslinger ble tatt ved å stryke på overflaten av de indre bløtdelene (fot og kappe) med en bomullspinne (Q-tip) (Karlsson & Larsen 2013, Karlsson et al. 2013) og overført til en bufferløsning for lagring.

I denne rapporten bruker vi begrepet «stammusling» for voksenmuslingene som ble tatt inn i anlegget for produksjon av småmuslinger. For bestander med befruktning i anlegget (Haukåselva), utgjør stammuslingene alle mulige foreldre til småmuslingene. For bestander med befruktning i elva (foretrukket metode for kultivering ved kultiveringsanlegget), finnes alle mødrene blant stammuslingene, mens ingen eller få fedre forventes å være blant stammuslingene. For bestandene med befruktning i elva, er begrepet «stammusling» altså noe misledende da det også inkluderer hannmuslinger i elva. For de bestandene der gravide stammuslinger ble hentet fra elva omfatter estimater av effektivt antall stammuslinger både de innsamlede mødrene og fedre som står igjen i elva.

### 2.2 Genotyping

DNA ble ekstrahert som beskrevet i Karlsson og Larsen (2013), ved bruk av Dneasy tissue kit fra Qiagen. NINA har i mange studier genotypet åtte mikrosatellitter fordelt på to PCR-multiplexer som beskrevet av Karlsson & Larsen (2013) og Karlsson et al. (2013). I senere analyser har to av disse blitt erstattet av ni nye markører (Geist et al. 2003; Garlie 2010) som beskrevet av Karlsson et al. (2016). I denne analysen ble muslingene undersøkt med hensyn til det nye markørsettet på 15 mikrosatellitter.

### 2.3 Statistisk analyse

Genetisk variasjon innenfor bestandene ble undersøkt i form av heterozygositet (forventet og observert andel heterozygote individer for hver enkelt markør) og allelrikdom (antall forskjellige alleler uavhengig av antall prøver). Allelrikdom og innavl ble beregnet ved hjelp av R-pakken *hierfstat* (Goudet 2005) og observert heterozygositet ble beregnet ved hjelp av R-pakken *adegenet* (Jombart 2008). Forventet antall alleler ved ulik utvalgsstørrelse ble undersøkt ved bruk av funksjonen *allelic.richness*, i R pakken *hierfstat* (Goudet 2005).

Genetisk differensiering mellom bestander ble undersøkt i form av parvise genetiske forskjeller (genetisk forskjell mellom to bestander) mellom alle de undersøkte elvemuslingbestandene (parvis genetisk distanse). Parvis genetisk distanse ( $F_{ST}$ ) og tilhørende konfidensintervaller ble beregnet i R-pakken *assigner*.

Genetisk integritet på individnivå ble undersøkt ved bruk av «discriminant analysis of principal components» (DAPC) (Jombart et al. 2010). Metoden maksimerer genetisk variasjon mellom grupper (bestander) og minimerer genetisk variasjon innenfor grupper. Metoden er godt egnet for genetisk tilordning av enkeltindivider til bestander.

Effektivt antall stammuslinger og slektskap mellom småmuslinger og voksenmuslinger ble undersøkt i programmet COLONY (Jones & Wang 2010). Undersøkelsen ble kun gjort for

Haukåselva og Hagneselva fordi disse to bestandene hadde størst genetisk variasjon, som tillater genetisk tilordning med lav usikkerhet, mens den genetiske variasjonen i Flotåna og Lomma var for lav for en slik analyse (Wacker & Karlsson 2023). Småmuslingene for Haukåselva ble produsert ved befruktning i anlegget og genotyper til alle foreldre var derfor tilgjengelig. Småmuslinger for Hagneselva ble produsert ved befruktning i elva og genotyper var derfor tilgjengelig for mødre, mens ingen eller få fedre forventes å være blant stammuslingene.

Programmet COLONY estimerer effektivt antall stammuslinger utfra andelen halv- og helsøsken blant alle parvise sammenlikninger mellom småmuslinger. For hver mulig kombinasjon av to småmuslinger (parvis sammenlikning), blir slektskap estimert som ubeslektet, halvsøsken eller helsøsken (parvis slektskap). Halv- og helsøsken ble identifisert i COLONY med en sannsynlighetsmetode som tar hensyn til både sannsynlighet av parvis slektskap og rekonstruksjon av slektskap mellom alle individer («full-pedigree likelihood»). Analysen i COLONY ble gjennomført med mulighet for polygami blant hunner og hanner, uten oppdatering av allelfrekvenser, med «sibship scaling» og uten «sibship prior». Andel genotypefeil ble satt til 0,05, som er et konservativt høyt estimat. Sannsynlighet for at foreldrene var blant genotypene ble satt til 0,99 basert på muligheten at ikke alle stammuslinger var blant prøvene.

## 3 Resultater

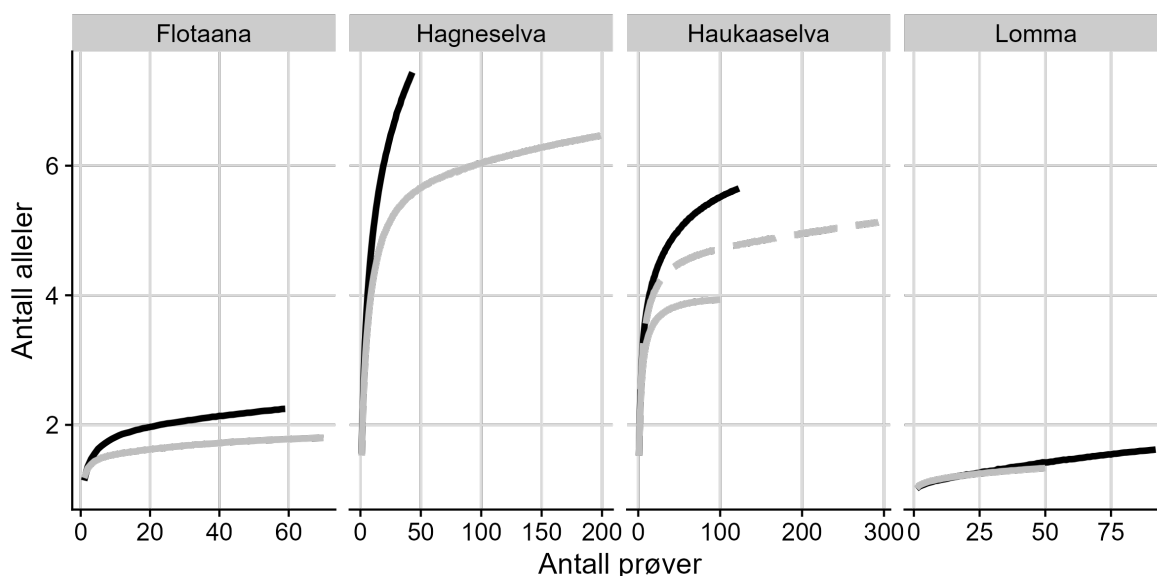
### 3.1 Genotyping

Genotypingen var vellykket ved minst 13 av de 15 markørene for alle småmuslinger og for 220 av 222 stammuslinger. Genotypingen var til tross for reanalyse ikke vellykket ved minst 13 markører for én stammusling fra Lomma (genotypet ved ingen markører) og én stammusling fra Hagneselva (genotypet ved sju markører).

### 3.2 Genetisk variasjon i stammusling

Vi undersøkte i hvilken grad den genetiske variasjonen som finnes i bestandene var representert i voksenmuslingene, ved å undersøke hvor mange ulike alleler (genvarianter) per markør som fantes med økende stikkprøvestørrelser. En utflatende kurve i disse undersøkelsene indikerer at de innsamlede muslingene reflekterer den genetiske variasjonen i bestanden. Denne undersøkelsen er spesielt relevant for Haukåselva, der stammuslingene utgjorde alle mulige foreldre. For de andre bestandene, der befruktning var antatt å ha skjedd i elva, forventes det at et stort antall ukjente fedre bidro til småmuslingene. For Flotåna, Hagneselva og Lomma forventes derfor at det totalt blant avkommet ville være flere alleler representert enn påvist i undersøkelsen av voksenmuslinger.

Resultatene tyder på at den genetiske variasjonen som foreligger i bestandene i Hagneselva og Haukåselva bare delvis var representert av stammuslingene (**Figur 1**). Bestandene har stor genetisk variasjon, og antallet påviste alleler økte kraftig opp til det undersøkte antallet individer (**Figur 1**). Dette var også tilfelle når tidligere genotypede voksenmuslinger ble undersøkt sammen med stammuslingene fra Haukåselva. Antallet alleler flatet i stor grad ut for Flotåna og Lomma, og viste bare en svak økning opp til det undersøkte antallet individer (**Figur 1**). Dette var også tilfelle når tidligere genotypede voksenmuslinger ble undersøkt sammen med stammuslingene fra Lomma.



**Figur 1.** Gjennomsnittlig antall alleler ved 15 mikrosatellitt-markører i voksenmuslinger (svarte linjer) og småmuslinger (grå linjer) fra Flotåna, Hagneselva, Haukåselva og Lomma. For Haukåselva viser den stiplede linjen produksjonen med infestering i 2020 og 2021 sammenlagt. Hvert antall prøver ble tilfeldig trukket 1000 ganger fra de undersøkte individene. Bare individer som ble genotypet ved alle markører er inkludert i figuren.

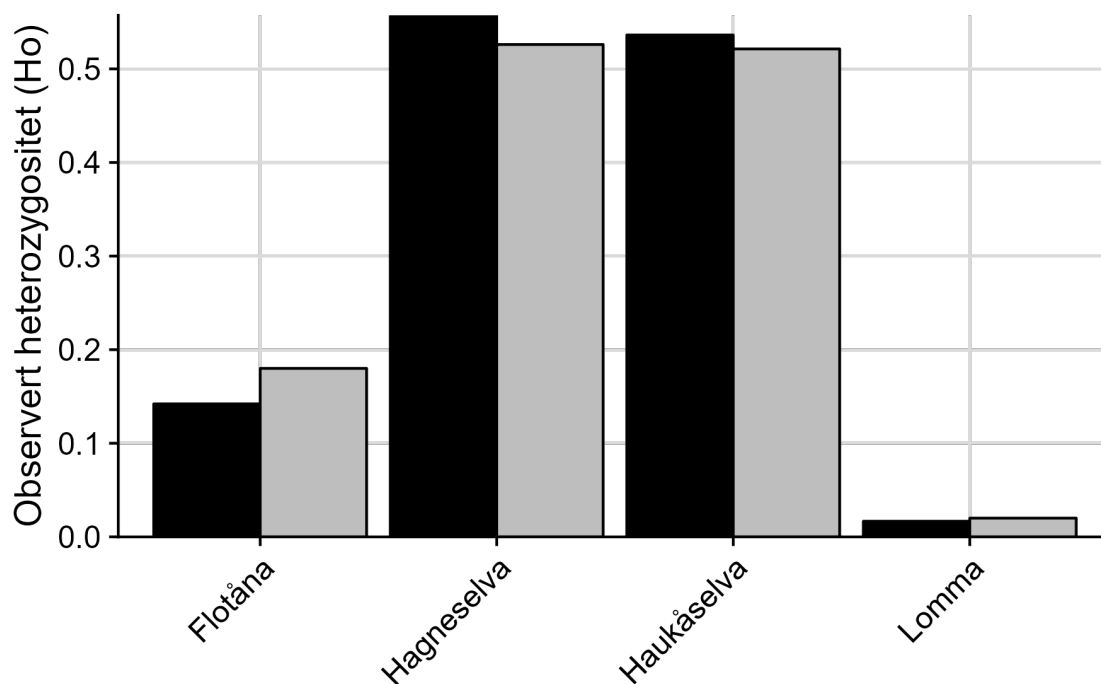
### 3.3 Genetisk variasjon i småmusling

Vi sammenliknet genetisk variasjon i småmuslingene med genetisk variasjon i stammuslingene. Genetisk variasjon, målt som observert heterozygositet, var ikke redusert i småmuslingene sammenliknet med stammuslingene eller voksenmuslingene (**figur 2**). Observert heterozygositet var 27 % høyere i småmuslinger fra Flotåna sammenliknet med voksenmuslingene (**figur 2**). Observert heterozygositet for småmuslingene fra Haukåselva fra produksjonen med infestering i 2020 og 2021 samlet var 0,54 og dermed likt stammuslingene.

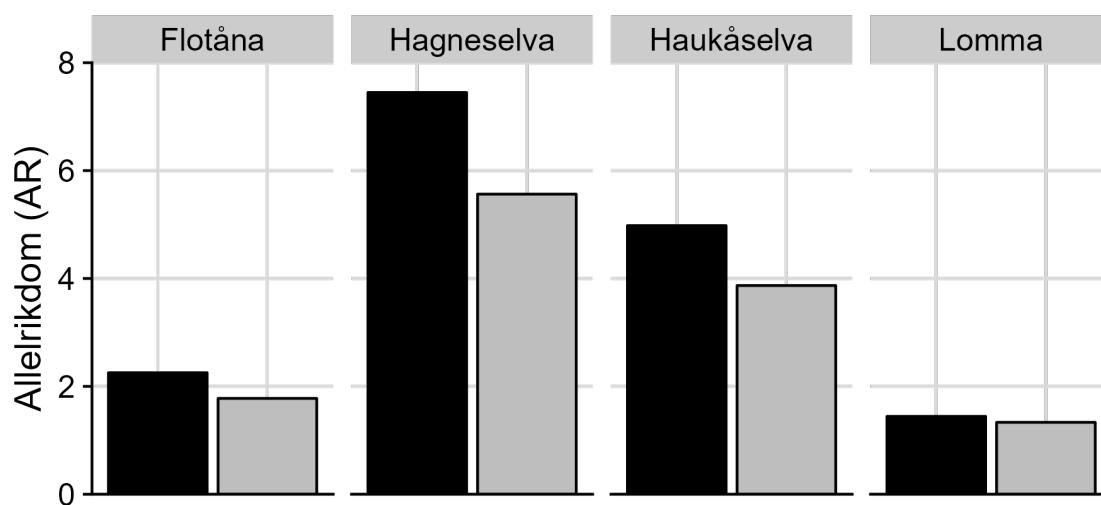
Genetisk variasjon, målt som antall alleler per markør, ble redusert fra stammuslingene til småmuslingene i alle bestandene (**Tabell 1; Figur 1; Figur 3**). Reduksjonen i allelrikdom var størst i Flotåna, Hagneselva og Haukåselva på henholdsvis 21 %, 25 % og 22 %. Reduksjonen var betydelig mindre i Lomma (8 %). Når genotyper fra tidligere undersøkelser ble slått sammen med stammuslingene fra Haukåselva (for å øke antall prøver i estimering av allelrikdom) var reduksjon i allelrikdom på 29 % (**Figur 1**). Allelrikdom ved undersøkelse av 100 individer fra Haukåselva ble estimert til 5,52 alleler for voksenmuslinger (stammuslinger og tidligere innsamlete voksenmuslinger) og til 3,93 alleler for småmuslingene (**Figur 1**). Når genotyper av småmuslinger fra produksjonen med infestering i 2020 og 2021 ble slått sammen var reduksjon i allelrikdom på 13 % (**Figur 1**). Allelrikdommen ved undersøkelse av 127 individer fra Haukåselva ble estimert til 5,65 alleler for voksenmuslinger (stammuslinger og tidligere innsamlete voksenmuslinger) og til 4,89 alleler for småmuslingene (produksjonen med infestering i 2020 og 2021) (**Figur 1**).

**Tabell 1.** Antall undersøkte småmuslinger og stammuslinger, effektivt antall stammuslinger (Neb), reduksjon i allelrikdom fra stammuslinger til småmuslinger (Reduksjon AR (%)), antall prøver brukt i estimering av allelrikdom (N AR) og antall markører brukt i estimering av allelrikdom (Markør AR).

Bestand	Småmuslinger	Stammuslinger	Neb	Reduksjon AR (%)	N AR	Markør AR
Flotåna	70	64	--	21,1	52	15
Hagneselva	199	59	15	25,3	43	15
Haukåselva	100	44	6	22,3	40	15
Lomma	50	55	--	7,7	50	15

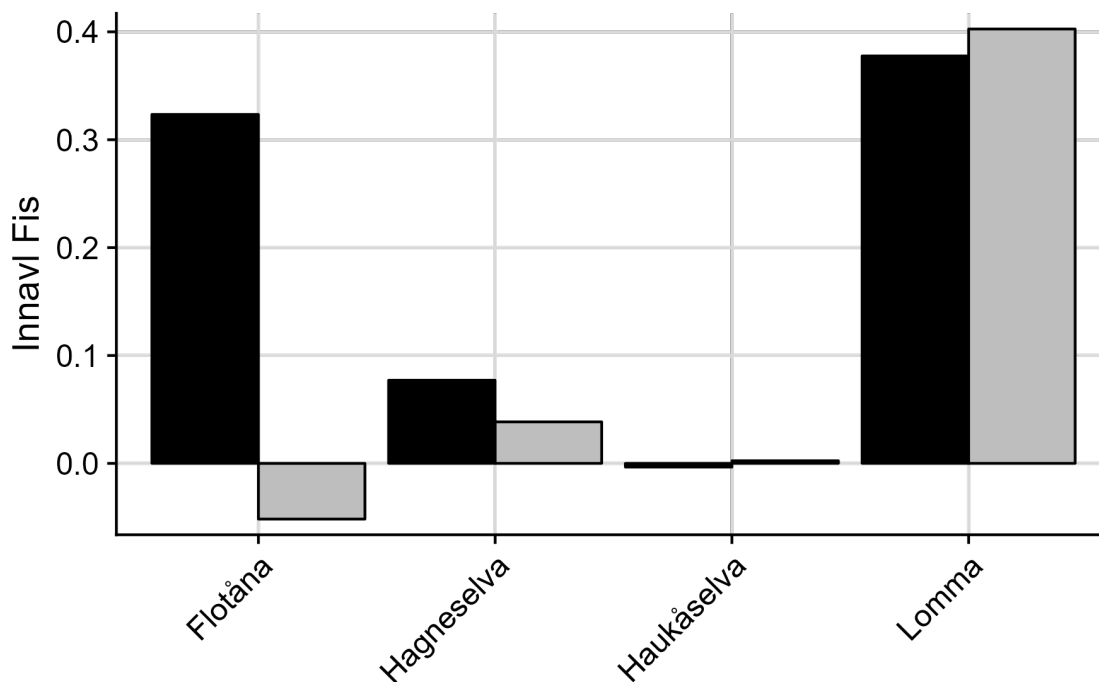


**Figur 2.** Genetisk variasjon målt som observert heterozygositet i stammuslinger (svarte stolper) og småmuslinger (grå stolper) fra Flotåna, Hagneselva, Haukåselva og Lomma.



**Figur 3.** Genetisk variasjon målt som allelrikdom i stammuslinger (svarte stolper) og småmuslinger (grå stolper) fra Flotåna, Hagneselva, Haukåselva og Lomma. Allelrikdom er beregnet innenfor bestander og er derfor ikke sammenliknbar mellom bestander.

Graden av innavl var høy i stammuslingene, men ikke i småmuslingene fra Flotåna (**Figur 4**). Innavl ble målt som  $F_{IS}$ , som indikerer at observert heterozygositet ( $H_o$ : 0,14) var lavere enn heterozygositet forventet utfra allelfrekvensene ( $H_e$ : 0,21) for stammuslingene fra Flotåna. Innavlkoeffisienten  $F_{IS}$  var høy ved sju av åtte genetiske markører ( $F_{IS}$ : 0,23 – 0,57) som hadde mer enn ett allel for stammuslingene fra Flotåna, mens  $F_{IS}$  ved den siste markøren var 0,08. Graden av innavl var høy for både stammuslingene og småmuslingene fra Lomma, men bestanden har bare marginal genetisk variasjon og usikkerheten i estimeringen av  $F_{IS}$  er derfor høy (**Figur 2**).



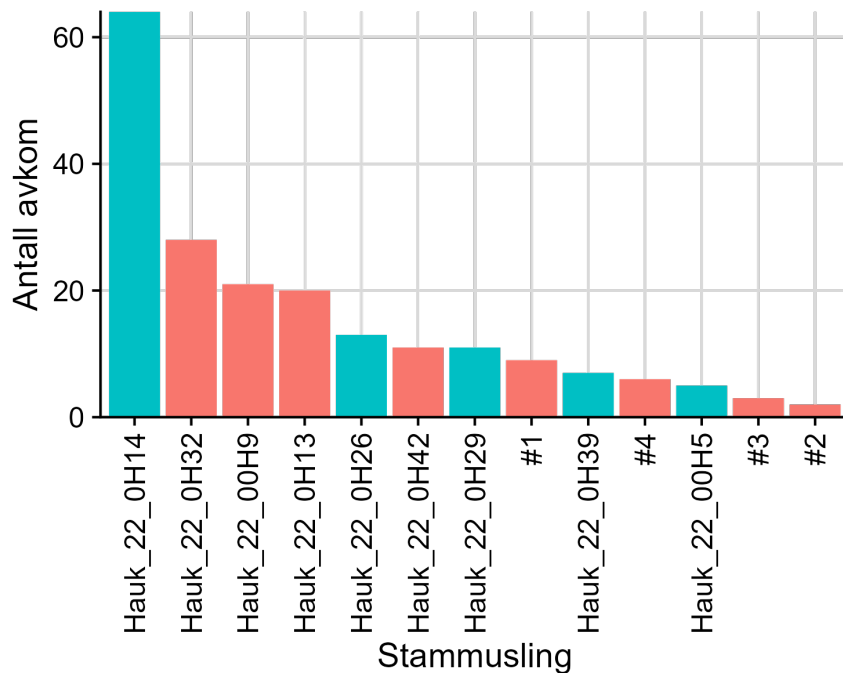
**Figur 4.** Grad av innavl i stammuslinger (svarte stolper) og småmuslinger (grå stolper), fra Flotåna, Hagneselva, Haukåselva og Lomma.

### 3.4 Effektivt antall stammuslinger

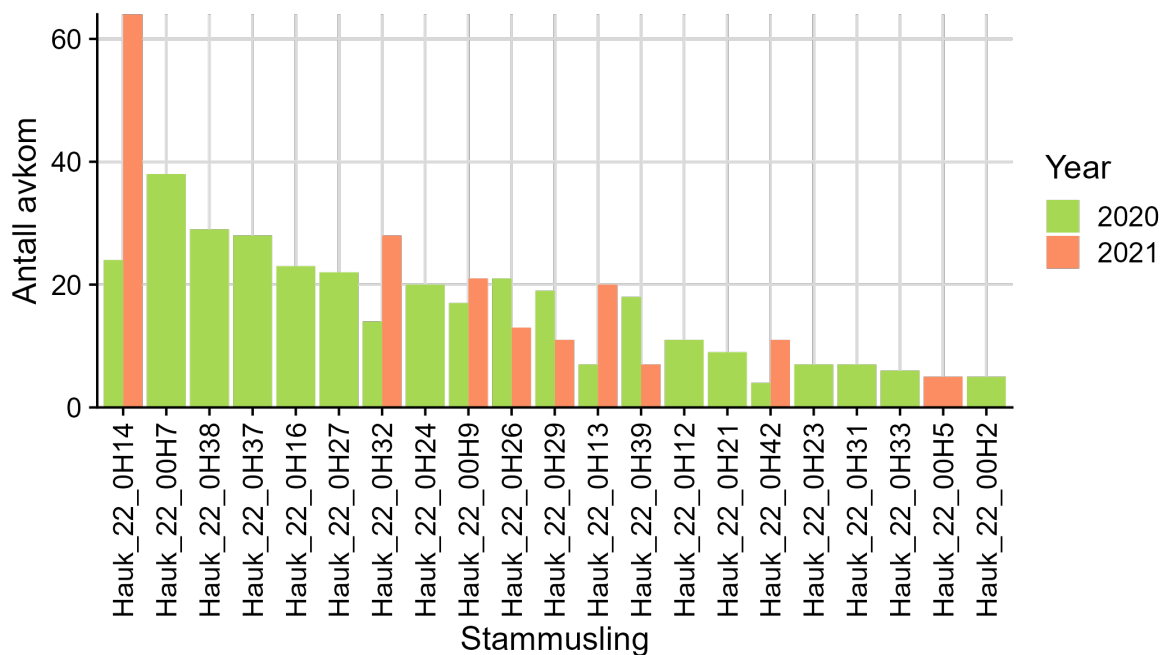
Den genetiske variasjonen i elvemuslingen fra Haukåselva og Hagneselva var tilstrekkelig høy til genetisk foreldretilordning, men for lav i Flotåna og Lomma. Tilordning av avkom til stammuslinger og beregninger av effektivt antall stammuslinger presenteres derfor kun for Haukåselva og Hagneselva.

Småmuslingene fra Haukåselva ble tilordnet 13 foreldre, hvorav ni kjente foreldre som det fantes prøver fra (**Figur 5**), mens ingen avkom ble tilordnet de resterende 35 andre stammuslinger som det også fantes prøver fra (**Figur 5; Tabell 1**). Antallet mor-muslinger og far-muslinger var åtte og fem eller fem og åtte. Det var betydelig større variasjon i antall avkom blant foreldre enn forventet ved tilfeldig fordeling (varians: 166,0; gjennomsnitt: 11,8 avkom; i Poissonfordeling forventes varians være likt gjennomsnitt) (**Figur 5**). Effektivt antall stammuslinger ble estimert til seks (**Tabell 1**).

De samme stammuslinger fra Haukåselva ble benyttet for produksjon av småmuslinger med infestering i 2020 og estimert effektivt antall stammuslinger fra denne produksjonen var 19 (Wacker & Karlsson 2023). Et større antall stammuslinger bidro til den første produksjonen av småmuslinger enn til den andre produksjonen (**Figur 6**). Åtte av ni stammuslinger som ble tilordnet som foreldre i den andre produksjonen ble også tilordnet som foreldre i den første produksjonen (**Figur 6**). Samlet effektivt antall stammuslinger for produksjonene med infestering i 2020 og 2021 med likt antall avkom fra disse årene (N=100) ble estimert til 17.



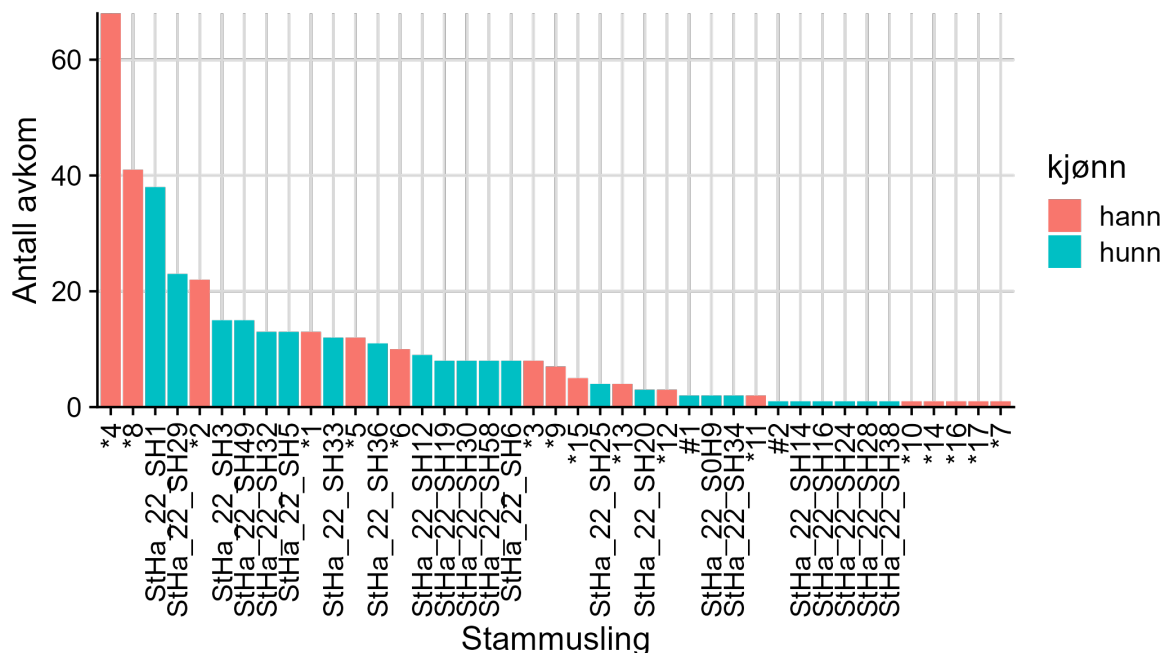
**Figur 5.** Antall avkom for stammuslinger fra Haukåselva. Kjønnen til stammuslingene var ukjent og fargene viser de to ulike kjønnene uten at de er angitt som hunn eller hann. Foreldre med enkelttall som individbetegnning har ikke blitt prøvetatt.



**Figur 6.** Antall avkom for stammuslinger fra Haukåselva ved infestering i 2020 (198 småmuslinger undersøkt) og i 2021 (100 småmuslinger undersøkt). Figuren viser bare tilordnete foreldre som har blitt prøvetatt.

Stammuslingene fra Hagneselva antas å ha blitt innsamlet etter at befruktning skjedde i elva. Ved befruktning i elva er alle mødre blant de innsamlede stammuslingene mens ingen eller få fedre forventes å være blant stammuslingene. Småmuslingene ble derfor tilordnet til prøvetatte

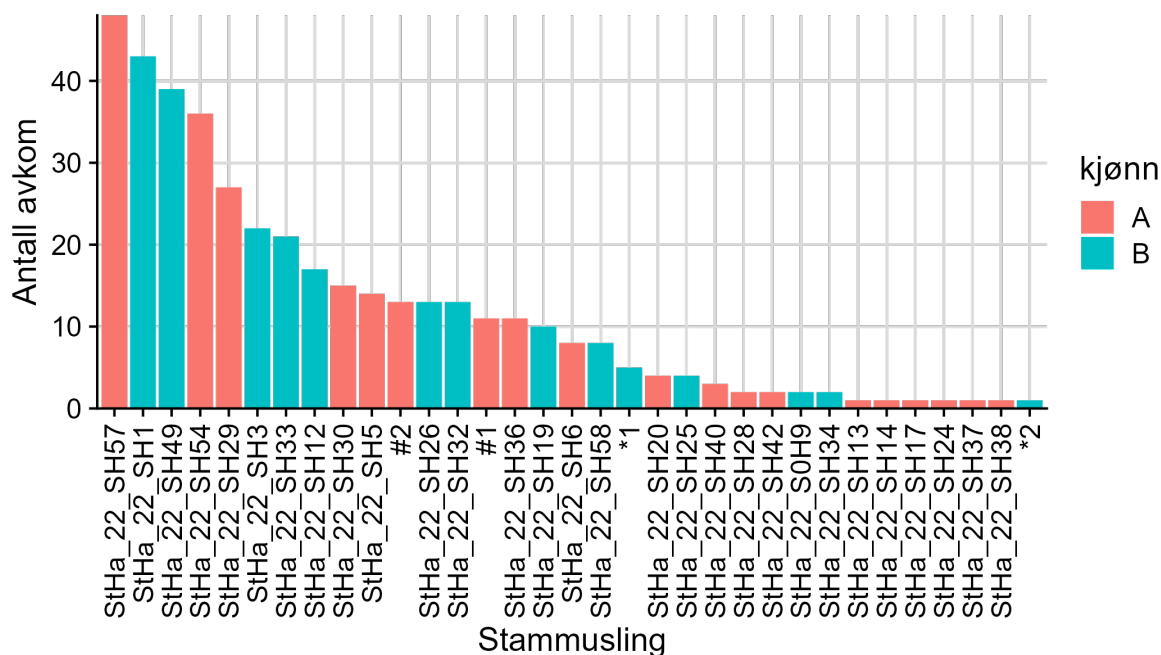
mødre blant stammuslingene, mens bidraget til ikke-innsamlede fedre ble rekonstruert i analysen. Småmuslingene fra Hagneselva ble tilordnet 24 mødre, hvorav 22 har blitt tatt prøver av (**Figur 7**). Det er ukjent hvor mange gravide hunnmuslinger det var blant de 60 innsamlede voksenmuslingene. Det var betydelig større variasjon i antall avkom blant mødrene enn forventet ved tilfeldig fordeling (varians: 75,6; gjennomsnitt: 8,3 avkom) (**Figur 7**). Småmuslingene ble tilordnet 17 fedre, hvorav to ble tilordnet veldig mange avkom. Antall tilordnete fedre var lavere enn forventet ved befruktning i elva og siden usikkerheten i tilordning til ikke-prøvetatte foreldre er betydelig større kan dette delvis skyldes feiltildning. Effektivt antall stammuslinger ble estimert til 15 (**Tabell 1**).



**Figur 7.** Antall avkom for stammuslinger fra Hagneselva ved antagelse at befruktningen skjedde i elva. Småmuslingene ble tilordnet til mødre blant stammuslingene (grønn), mens fedre (rødt) ikke ble innsamlet og prøvetatt. Foreldre med enkelttall som individbetegnning har ikke blitt prøvetatt.

Det kan ikke utelukkes at befruktningen av stammuslingene fra Hagneselva skjedde etter innsamlingen, altså etter at stammuslingene kom til anlegget. Vi tilordnet derfor småmuslingene også til både mødre og fedre blant stammuslingene. Småmuslingene fra Hagneselva ble tilordnet 33 foreldre, hvorav 29 kjente foreldre som det fantes prøver fra (**Figur 8**), mens ingen avkom ble tilordnet noen av de andre 30 stammuslingene (**Figur 8; Tabell 1**). Det var bare 30 tilfeller der en av foreldrene ikke var blant de prøvetatte stammuslingene (ut av 400 tilordninger). Resultatene tyder på at befruktningen skjedde i anlegget. Tilfellene der foreldre ikke var blant de prøvetatte stammuslingene kan forklares delvis ved at genotypen manglet for én stammusling og delvis ved at genotypingsfeil blant avkom (småmuslinger) eller foreldre (stammuslinger) kan ha forekommet og forhindret tilordning. Antallet av de to kjønnene til de tilordnede foreldrene var 14 og 19. Det var betydelig større variasjon i antall avkom blant foreldre enn forventet ved tilfeldig fordeling (kjønn A: varians: 175,5; gjennomsnitt: 10,5 avkom; kjønn B: varians: 175,3; gjennomsnitt: 14,3 avkom) (**Figur 5**). Effektivt antall stammuslinger ble estimert til 16.



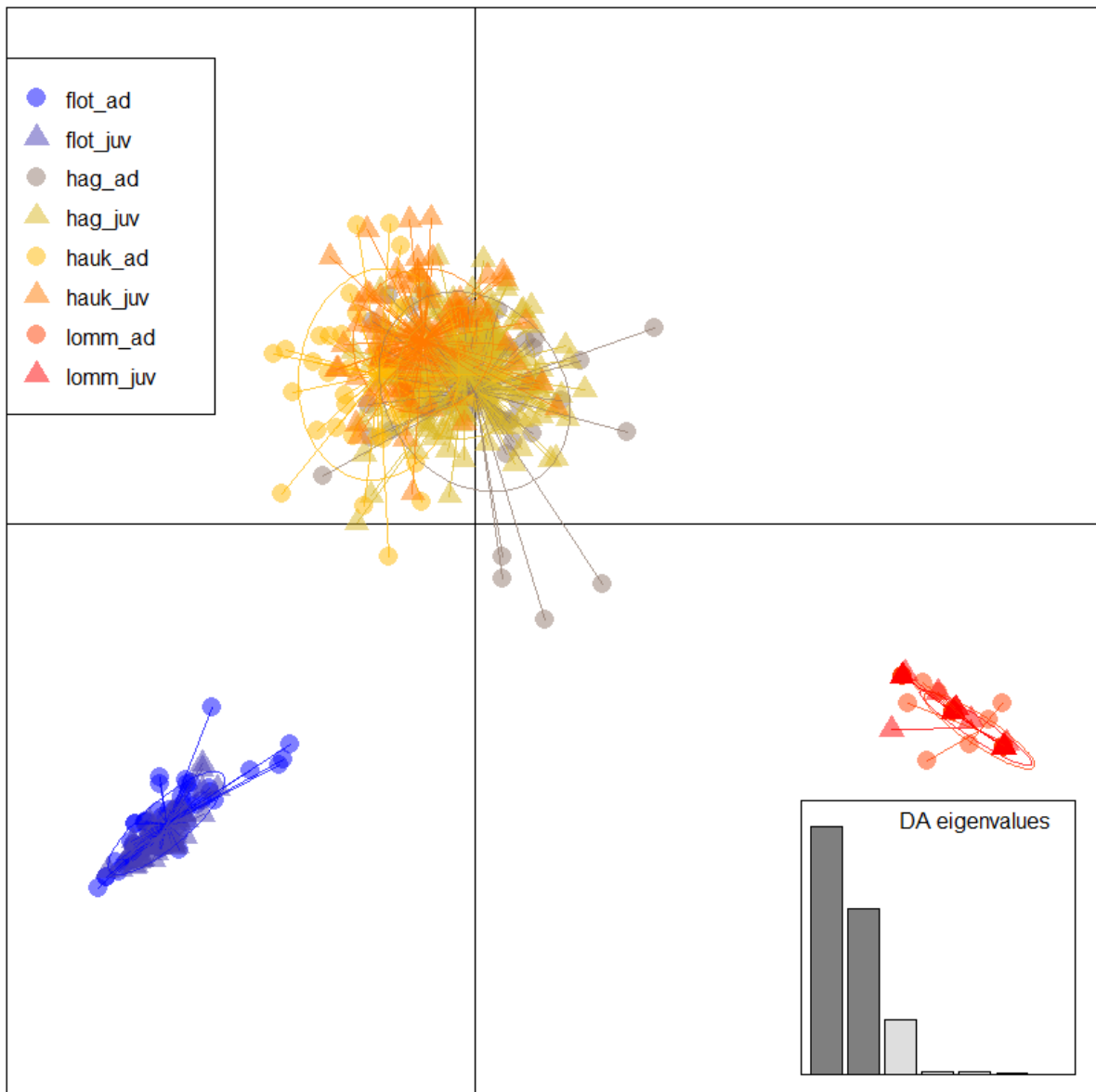


**Figur 8.** Antall avkom for stammuslinger fra Hagneselva ved antagelse at befrukningen skjedde i anlegget. Kjønn til stammuslingene var ukjent og fargene viser de to ikke navngitte kjønn av tilordnete foreldre. Foreldre med enkelttall som individbetegnelse har ikke blitt prøvetatt.

### 3.5 Genetisk integritet

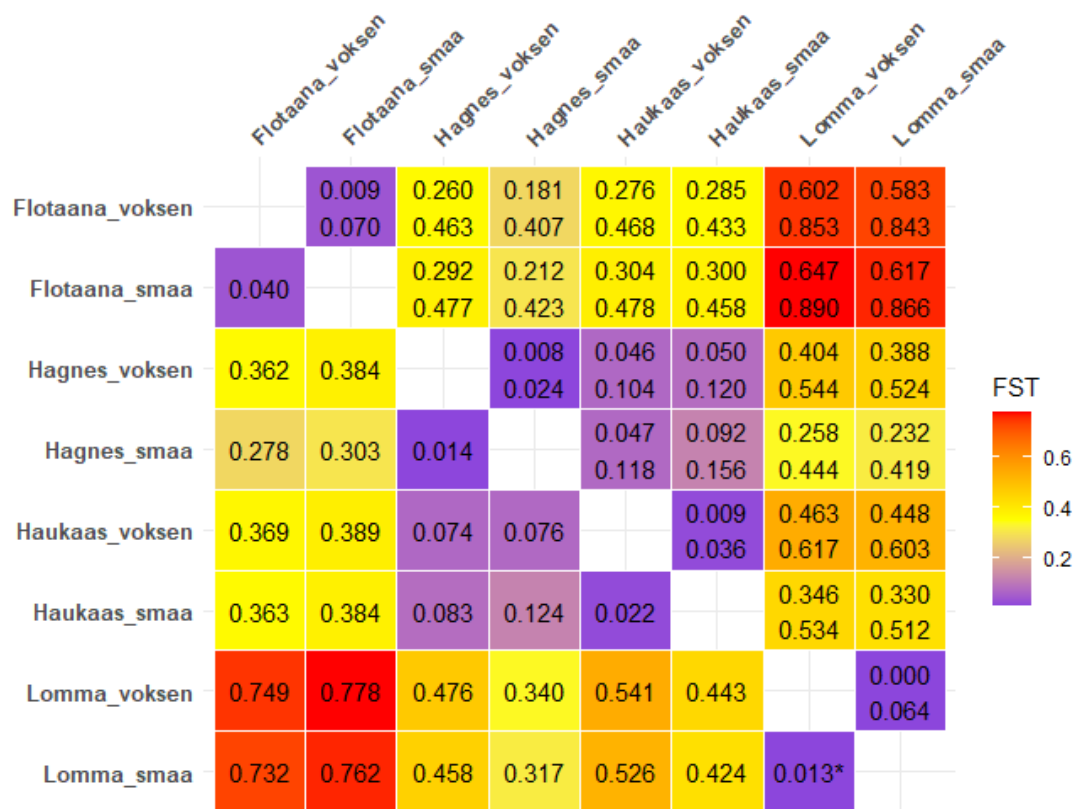
Vi undersøkte om den genetiske integriteten av bestandene ble ivaretatt i produksjonen av småmuslingene ved bruk av «Discriminant Analysis of Principal Components» (DAPC). Metoden grupperer enkeltindivider på en slik måte at den maksimere genetisk variasjon mellom bestander og minimere genetisk variasjon innenfor bestander.

Resultatene tyder på at den genetiske integriteten i bestandene ble ivaretatt i produksjonen av småmuslinger. Elvemusling fra Flotåna og Lomma ble tydelig differensiert fra de andre bestandene, og alle voksenmuslinger og småmuslinger fra disse bestandene ble gruppert innenfor tydelig avgrensede grupperinger (**Figur 7**). Med denne metoden var det ingen tydelig differensiering mellom Hagneselva og Haukåselva, og det var derfor ikke mulig å skille mellom opphavet til småmuslingene fra disse bestandene, men ingen individer fra disse bestandene ble plassert utenfor grupperingen (**Figur 7**).



**Figur 8.** Gruppering av stammuslinger (trekanter) og småmuslinger (sirkler) basert på discriminant analysis of principal components (DAPC). Fargene viser muslinger fra Flotåna («flot»), Hagneselva («hag»), Haukåselva («hag») og Lomma («lomm»).

Vi beregnet parvise genetiske distanser ( $F_{ST}$ ) mellom alle grupper av voksenmuslinger og småmuslinger. Det var ubetydelig genetisk distanse mellom småmuslinger og stammuslinger fra samme bestand ( $F_{ST}$ : 0,013-0,040; **Figur 9**) sammenliknet med den genetiske distansen mellom småmuslinger og stammuslinger fra forskjellige bestander ( $F_{ST}$ : 0,278-0,732) og mellom småmuslinger fra forskjellige bestander ( $F_{ST}$ : 0,303-0,762) (**Figur 9**), med unntak av sammenlikningen mellom Haukåselva og Hagneselva ( $F_{ST}$ : 0,014-0,124).



**Figur 9. Parvise genetiske distanser ( $F_{ST}$ ) mellom voksenmuslinger og småmuslinger fra Flotaana, Hagneselva, Haukaaselva og Lomma (\* er ikke signifikant) og 95% konfidensintervaller (ovenfor diagonalen).**

## 4 Diskusjon

### 4.1 Klassifiseringssystemet

Vi brukte et foreløpig klassifiseringssystem foreslått av Miljødirektoratet for å vurdere produksjonen fra infesteringen i 2021. Dette klassifiseringssystemet ble også brukt ved vurdering av infesteringen i 2020 (Wacker & Karlsson 2023).

Et bedre datagrunnlag er fortsatt ønskelig for å vurdere hvor lite tap av genetisk variasjon som er oppnåelig ved innsamling av 60 stammuslinger etter befruktning i elva. For tre av de undersøkte bestandene var planen at fertilisering skulle skje i elva. Blant disse tre bestandene var det dog kun Hagneselva at genetisk variasjon var høy nok til å tilordne småmuslingene til foreldre og dermed undersøke hvorfor genetisk variasjon ble tapt. Samtidig tyder resultatene på at befruktningen av stammuslinger fra Hagneselva kan ha skjedd i anlegget. Grenseverdiene til klassifiseringssystemet burde derfor først fastlegges når et bedre datagrunnlag foreligger.

I vurderingen av produksjonen fra infestering i 2021 brukte vi grenseverdier på 0-10 % (grønn), 10-20% (gul) og >20 % (rød) for å vurdere tap av genetisk variasjon i småmuslingene sammenliknet med stammuslingene. For eksempel har en gjennomsnittlig laksemusling-bestand i Norge en allelrikdom på 6,3 alleler (5,7 – 6,9 alleler) (Wacker et al. 2021), som blir redusert til henholdsvis 5,7 og 5,0 alleler ved 10% og 20% tap av genetisk variasjon. Ved grønn klassifisering har altså produksjonen fra en gjennomsnittlig laksemuslingbestand en allelrikdom som ligger innenfor variasjonen som finnes blant laksemusling i Norge, mens dette er ikke tilfelle ved gul klassifisering.

For en samlet *grønn* eller *gul* klassifisering av produksjonen må den genetiske distansen være liten i forhold til genetiske forskjeller mellom bestander som kan anses å være tilfelle ved  $F_{ST} < 0,05$ . Hvis småmuslingene har en betydelig genetisk distanse til bestanden ( $F_{ST} > 0,05$ ), klassifiseres produksjonen som rød.

Genetisk integritet på individnivå klassifiseres ikke ved bruk av faste grenseverdier. Det er store forskjeller i genetisk distanse mellom elvemusling-bestander i Norge. Laksemuslingbestander er, for eksempel, ikke forskjellig nok fra hverandre for å kunne tilordne enkeltindivider. Genetisk integritet på individnivå undersøkes og vurderes kvalitativt i hvert enkelt tilfelle. Denne metoden kan oppdage eventuelle tilfeller der stammuslinger eller småmuslinger har blitt blandet i anlegget.

### 4.2 Klassifisering av produksjonen fra infestering 2021

#### 4.2.1 Flotåna

Produksjonen av småmuslinger fra Flotåna klassifiseres som *rød på grunn av tap av genetisk variasjon*.

Genetisk variasjon, målt som allelrikdom, ble redusert med 21 % fra bestanden til småmuslingene. Bestanden er en ørretmusling med forholdsvis lav genetisk variasjon og resultatene viser at en stor andel av den genetiske variasjonen (alleler) forelå i 64 voksenmuslinger fra bestanden. Betydelig tap av genetisk variasjon fra bestanden til småmuslingene viser at et utilstrekkelig antall mødre bidro til småmuslingene eller at et utilstrekkelig antall fedre fertiliserte de innsamlete hunnmuslingene.

Elvemusling fra Flotåna hadde en betydelig grad av innavl, altså en større andel homozygote individer enn forventet fra allelfrekvensene. Det ble dog ikke funnet innavl i småmuslingene fra Flotåna. På grunn av denne uventede observasjonen ble stammuslingene genotypet på nytt for å utelukke genotypingsfeil, uten at det ble avdekket noen betydelige feil. En mulig forklaring til dette er at det foreligger en genetisk struktur innenfor bestanden i Flotåna, for eksempel med to

eller flere delbestander. Dette kan ha opphav i etableringen av bestanden eller i begrenset genflyt mellom individer fra ulike områder av elven. En stikkprøve som består av en fysisk miks av individer fra ulike delbestander vil opptre med et underskudd av heterozygoter, såkalt Wahlund-effekt. Avkom etter kryssinger mellom ulike delbestander vil imidlertid gi et overskudd og en høy andel heterozygoter slik som observert i småmuslingene fra Flotåna. Til tross for at en Wahlund-effekt kan forklare den store forskjellen i observert heterozygositet mellom voksenmuslinger og småmuslinger kan vi ikke utelukke andre forklaringer. Genetisk integritet ble ivaretatt og det var ubetydelig genetisk differanse ( $F_{ST} < 0,05$ ) mellom bestanden og småmuslingene ( $F_{ST}$ : 0,040, 95 % CI: 0,009 – 0,070). På individnivå ble alle småmuslinger gruppert sammen med voksenmuslingene fra Flotåna.

Genetisk variasjon i bestanden var for lav for å kunne tilordne småmuslinger til mødre og for å estimere effektivt antall stammuslinger.

#### 4.2.2 Hagneselva

Produksjonen av småmuslinger fra Hagneselva klassifiseres som *rød på grunn av tap av genetisk variasjon*.

Genetisk variasjon, målt som allelrikdom, ble redusert med 25 % fra bestanden til småmuslingene. Utfra infestering av vertsfisk under produksjonen er bestanden mest sannsynlig en ørretmusling (personlig meddelelse Katrine Åmdal Sundt), men det forekommer laks i bestandens utbredelsesområde. Bestanden har stor genetisk variasjon, med en nesten like stor variasjon som i laksemuslingbestander (Wacker et al. 2021).

Stammuslingene fra Hagneselva ble innsamlet etter forventet tidspunkt for befruktning i elva. Ved befruktning i elva kan et stort antall fedre bidra til avkom fra hver mor (Wacker et al. 2018). Det forventes derfor at den genetiske variasjonen i stor grad blir ivaretatt ved innsamling av 60 stammuslinger etter befruktning (Wacker et al. 2019; Wacker & Karlsson 2023). Det store tapet av genetisk variasjon fra bestanden til småmuslinger fra Hagneselva viser dog at effektivt antall stammuslinger var lavt. Effektivt antall stammuslinger ble utfra tilordning av småmuslingene til foreldre estimert til 15. Hvis befruktning har skjedd i elva kan et lavt effektivt antall stammuslinger hovedsakelig forklares ved bidrag fra færre fedre enn forventet. Alternativt kan befruktningen ha funnet sted etter innsamlingen og etter at stammuslingene kom til anlegget.

Ved antagelse om befruktning i elva ble småmuslingene fra Hagneselva tilordnet 24 mødre. Dette er litt under halvparten av de innsamlete stammuslingene og dermed innenfor forventningen ved en balansert kjønnsfordeling i bestanden og en høy andel av hunnmuslinger som var gravide ved innsamling. Variasjonen i antall avkom blant mødrene var dog større enn forventet utfra tilfeldig variasjon. Variasjon i antall avkom reduserer effektivt antall stammuslinger og bidrar til tap av genetisk variasjon. Småmuslingene ble tilordnet 17 fedre og det må anses som usannsynlig at færre fedre enn mødre bidro til avkom ved befruktning i elva. Samtidig har elvemuslingbestanden i Hagneselva lav tetthet (Gregersen 2018, Sandaas & Enerud 2009, 2016a, Simonsen & Johansson 2008) og det er ukjent hvordan antall fedre som bidrar til avkom til hver mor er påvirket av dette. Antallet fedre som bidro kan også ha blitt underestimert i den genetiske tilordningen. Det er større usikkerhet i genetisk tilordning av småmuslinger til foreldre som ikke ble prøvetatt og antall foreldre blir underestimert i programmet COLONY ved utilstrekkelig antall genetiske markører (Ackerman et al. 2017; Wacker et al. 2022).

Ved antagelse om befruktning i anlegget ble småmuslingene fra Hagneselva tilordnet 33 foreldre ut av 60 stammuslinger. Det var stor variasjon i antall avkom innenfor begge kjønn av stammuslinger og effektivt antall stammuslinger ble estimert til 16. Resultatene tyder på at befruktning av stammuslingene fra Hagneselva skjedde i anlegget. En høy andel av småmuslingene ble tilordnet til stammuslingene. Dette forventes ikke når befruktningen skjedde i elva og (nesten) ingen fedre er blant de innsamlete voksenmuslingene. Det var høy overensstemmelse i helsøkengrupper mellom tilordningene ved antagelse om befruktning i elva og ved antagelse om befruktning i anlegget (resultatene ikke vist). Som følge av dette var også estimert effektivt antall

stammuslinger nesten likt i de to analysene. Dette tyder på at det var forholdsvis lav usikkerhet i foreldretilordningen og at det lave antallet fedre identifisert ved antagelse om befruktning i elva ikke skyldes feiltildning.

Resultatene viser også at de 60 stammuslingene ikke reflekterer den genetiske variasjon i elvemusling fra Hagneselva. Selv under optimale forhold for produksjon av småmuslinger ved fertisering i anlegget, altså med lik kjønnsfordeling og likt bidrag fra alle foreldre, ville en betydelig andel av den genetiske variasjonen i bestanden gå tapt.

Innavl ble ikke påvist i stammuslinger eller småmuslinger fra Hagneselva.

Genetisk integritet ble ivaretatt, og det var ubetydelig genetisk forskjell ( $F_{ST} < 0,05$ ) mellom bestanden og småmuslingene ( $F_{ST}$ : 0,016, 95 % CI: 0,008 – 0,025). På individnivå ble alle småmuslingene gruppert sammen med voksenmuslingene.

### 4.2.3 Haukåselva

Produksjonen av småmuslinger fra Haukåselva klassifiseres som *rød på grunn av tap av genetisk variasjon*.

Genetisk variasjon, målt som allelrikdom, ble redusert med 22 % fra bestanden til småmuslingene. Bestanden er en ørretmusling, men har forholdsvis stor genetisk variasjon, med en nesten like stor variasjon som i laksemuslingbestander (Wacker et al. 2021). Forskjellen mellom voksenmuslinger og småmuslinger var større når flere prøver ble brukt til estimering av allelrikdom. Dette forklares med forekomst av sjeldne alleler, altså alleler med lav frekvens. Dette er alleler som mest sannsynlig vil gå tapt i produksjonen og ved genetisk drift generelt. Samtidig bidrar alleler med lav frekvens i større grad til allelrikdom når dette blir estimert for et stort antall individer. Når allelrikdommen ble estimert for 100 individer (stammuslinger og tidligere innsamlete voksenmuslinger) ble tapet av allelrikdom fra bestanden til småmuslingene estimert til 29 %.

Småmuslingene fra Haukåselva ble produsert ved befruktning i anlegget og de samme stammuslingene ble brukt for produksjonen med infestering i 2020 (Wacker & Karlsson 2023) og 2021 (denne rapporten). Antallet stammuslinger som var i anlegget på tidspunktet for befruktningen og larveslipp er ukjent, fordi det har vært betydelig dødelighet mellom innsamlingen av 113 stammuslinger (2017 og 2019; Magerøy et al. 2022) og innsamlingen av prøver fra 44 individer som var i live i juni 2022. Det er ukjent hvor mange stammuslinger som var i live på tidspunkt av produksjonen og larveslipp. Småmuslingene ble tilordnet 13 foreldre, som er et betydelig lavere antall enn forventet ved befruktning i elva og innsamling av gravide stammuslinger. Antallet foreldre var også betydelig lavere enn for produksjonen med infestering i 2020 (31 foreldre), men et større antall småmuslinger ble undersøkt for produksjonen med infestering i 2020 (200 småmuslinger) enn for produksjonen med infestering i 2021 (100 småmuslinger). I tillegg var det betydelig variasjon i bidraget fra foreldrene, som var større enn forventet ved tilfeldighet. Dette resulterte i et effektivt antall stammuslinger på seks, som betyr stor sannsynlighet for at alleler med lav frekvens går tapt. Effektivt antall stammuslinger er i utgangspunktet uavhengig av antall undersøkte småmuslinger (så lenge antallet undersøkte småmuslinger overstiger effektivt antall stammuslinger) og estimatet var betydelig lavere for produksjonen med infestering i 2021 enn for produksjonen med infestering i 2020 (effektivt antall stammuslinger = 19). Effektivt antall stammuslinger estimert for begge produksjoner samlet var 19 og dermed ikke større enn fra den første produksjonen alene. Samlet effektivt antall stammuslinger ble ikke økt ved den andre produksjonen siden det stort sett var de samme foreldrene som også bidro i den første produksjonen og siden få foreldre bidro til den andre produksjonen. Til tross for at effektivt antall stammuslinger ikke ble økt ved den andre produksjonen ble tapet av alleler redusert fra 29 % til 13 %.

Resultatene viser også at de 60 stammuslingene ikke reflekterer den genetiske variasjon i elvemusling fra Haukåselva. Selv under optimale forhold for produksjon av småmuslinger ved fertisering i anlegget, altså med lik kjønnsfordeling og likt bidrag fra alle foreldre, ville en betydelig andel av den genetiske variasjonen i bestanden gå tapt.

Innavl ble ikke påvist i stammuslinger eller småmuslinger fra Haukåselva.

Genetisk integritet ble ivaretatt, og det var ubetydelig genetisk forskjell ( $F_{ST} < 0,05$ ) mellom bestanden og småmuslingene ( $F_{ST}$ : 0,016, 95 % CI: 0,009 – 0,036). På individnivå ble alle småmuslingene gruppert sammen med voksenmuslingene.

#### 4.2.4 Lomma

Genetisk variasjon og genetisk integritet for produksjonen fra Lomma klassifiseres som *grønn*.

Genetisk variasjon, målt som allelrikdom, ble redusert med 8 % fra bestanden til småmuslingene. Bestanden er en ørretmusling med lav genetisk variasjon, og resultatene viser at en stor andel av den genetiske variasjonen (alleler) var representert i 55 voksenmuslinger fra bestanden. Lite tap av genetisk variasjon fra bestanden til småmuslingene viser at et tilstrekkelig antall foreldre bidro til småmuslingene. Forskjeller i allelrikdom var dog vanskelig å oppdage siden den genetiske variasjon var lav, med mellom en og tre alleler totalt funnet per markør.

Det var høy grad av innavl (større andel homozygote individer enn forventet fra allelfrekvensene) i både stammuslinger og småmuslinger fra Lomma.

Genetisk integritet ble ivaretatt, og det var ubetydelig genetisk differanse ( $F_{ST} < 0,05$ ) mellom bestanden og småmuslingene ( $F_{ST}$ : 0,008, 95 % CI: 0,000 – 0,064). På individnivå ble alle småmuslinger gruppert sammen med voksenmuslingene fra Lomma.

Genetisk variasjon i bestanden var for lav for å kunne tilordne småmuslinger til mødre og for å estimere effektivt antall stammuslinger.

### 4.3 Oppsummert klassifisering av 2020 og 2021 investeringen

I **Tabell 2** er klassifiseringen av produksjon av elvemuslinger ved kultiveringsanlegget på Austevoll oppsummert for både 2020 og 2021 investeringen. Fra vurdering av disse produksjonene ser man at kun tre av ni produksjoner får grønn kategori. Produksjon der befruktning skjedd i anlegget har ikke oppnådd grønn kategori. Produksjoner basert på innsamling av gravide muslinger der befruktning skjedd elva ikke heller oppnådd tilfredsstillende genetisk representasjon i avkommet i to av fem produksjoner.

**Tabell 2.** Klassifisering av produksjonen fra investering 2020 (Wacker & Karlsson 2023) og 2021 (denne rapporten). Klassifisering av bevaring av genetisk variasjon og genetisk integritet er vist som trafikklssystem og tap av genetisk variasjon er angitt i prosent.

Bestand	Investering	Tap av genetisk variasjon	Genetisk integritet	Endelig kategori
Etna	2020	6 %	Grønn	Grønn
Haukåselva	2020*	12 %	Grønn	Gul
Lyngstadelva	2020*	9 %	Grønn	Gul
Svankilelva	2020	16 %	Grønn	Gul
Vollaelva	2020	7 %	Grønn	Grønn
Flotåna	2021	21 %	Grønn	Rød
Hagneselva	2021**	25 %	Grønn	Rød
Haukåselva	2021*	22 %	Grønn	Rød
Lomma	2021	8 %	Grønn	Grønn

\* Befruktning i anlegget, \*\* Sannsynlig befruktning i anlegget

## 4.4 Betydning for forvaltning

Vi undersøkte tap av genetisk variasjon og genetisk integritet i produksjonen av småmusling ved kultiveringsanlegget for elvemusling. Resultatene ble oppsummert ved bruk av et trafikklyssystem med foreløpige grenseverdier. Genetisk overvåkning av produksjonen ved anlegget vil gi et viktig bidrag til forvaltningen av elvemusling. Klassifiseringen av produksjonen kan brukes til å vurdere om småmuslingene skal settes ut i elva, hvor mye av produksjonen som skal settes ut i elva og om produksjonen bør repeteres med nye stammuslinger på et senere tidspunkt. Flere faktorer, som ikke er del av klassifiseringssystemet, vil ha stor betydning for disse avgjørelsene (Wacker & Karlsson 2023).

Produksjonen av tre av fire bestander med infestering i 2021 ble klassifisert som rødt, på grunn av betydelig tap av genetisk variasjon. For Haukåselva kan tap av genetisk variasjon forklares med befruktning i anlegget, der få stammuslinger bidro og der det var store forskjeller i antall avkom. Resultatene for Hagneselva tyder på at stammuslingene ble innsamlet for tidlig og at befrukningen skjedde i anlegget. Forklaringen for tap av genetisk variasjon er den samme som for Haukåselva. For Flotåna er forklaringen for tap av genetisk variasjon ukjent, men bestanden er i dårlig tilstand (Larsen 2009, Magerøy & Larsen 2021) og få stammuslinger kan derfor ha bidratt til produksjonen.

Produksjon av elvemusling fra Haukåselva har blitt gjort ved infestering i 2020 og 2021 og vurderingen av denne viste at effektivt antall stammuslinger var på henholdsvis 19 og 6. Fra infesteringsåret 2020 var beholdningen 2 337 småmuslinger 1,5 år etter infestering (januar 2022) og ved en nylig optelling var det kun ca. 500 muslinger. Fra infesteringsåret 2021 var beholdningen 11 554 småmuslinger 1,5 år etter infestering (januar 2023). For å maksimere totalt effektivt antall stammusling fra disse to produksjonene bør en mindre andel av produksjonen fra 2021 settes ut i forhold til 2020 produksjonen. Fordi den genetiske bredden var betydelig større fra 2020 infesteringen må de fåtall muslingene fra denne produksjonen være styrende for antallet som settes ut fra 2021. Vi anbefaler derfor at alle småmuslinger fra 2020 infestasjonen kan settes ut og noen hundre og ikke flere enn 500 fra 2021 infestasjonen. Dersom alle småmuslinger fra infestasjonen i 2021 tilbakeføres til vassdraget vil den samlede genetiske variasjonen fra disse dominere bidraget av kultivert elvemusling og potensielt føre til en reduksjon i genetisk variasjon i bestanden.

Analysene av småmuslinger fra produksjon fra stammuslinger fra Hagneselva indikerer at deler eller hele befruktningen skjedd i anlegget med påfølgende lav genetisk variasjon og representativitet i avkommet. Vi anbefaler at kun et lite utvalg av disse småmuslingene tilbakeføres til vassdraget. Produksjon av småmuslinger fra Flotånabestanden viste også lav genetisk variasjon og vi anbefaler at også et begrenset utvalg av disse muslingene tilbakeføres til vassdraget. Disse anbefalingene er beheftet med stor usikkerhet og det er umulig å gi et kvantitativt estimat på hvor mange muslinger som kan settes ut for å bidra positivt til bestanden samtidig som den genetiske variasjonen og integriteten ivaretas. Bakgrunnen for denne usikkerheten er at vi ikke vet hvor stor andel av bestanden disse muslingene vil utgjøre når de når reprodutiv alder og dermed ikke heller i hvilken grad disse vill kunne bidra til å redusere den totale effektive bestandsstørrelsen.

Genetisk variasjon og integritet i elvemusling fra Lomma var godt representert i de produserte småmuslingene og vi vurderer at et stort antall av disse kan tilbakeføres til bestanden. I

Resultatene fra Hagneselva illustrerer at det kan være problematisk å få samlet inn stammuslingene på riktig tidspunkt. Elvemusling er synlig gravide i ca. én måned, men når graviditeten finner sted kan variere med i overkant av en måned innad i lokaliteter i samme år, mellom år i samme lokalitet og mellom lokaliteter i samme år (Larsen 2017). Tidsrommet fra befruktning til larvene er synlige i gjellene til vertsfisken er ikke kjent. Samtidig kan for sen innsamling føre til at muslingene aborterer larvene pga. stress (Magerøy et al. 2022a, Per J. Jakobsen, pers. med.). Derfor har det vært normal praksis å samle inn ørretmusling i slutten av juni til begynnelsen av



juli og laksemusling fra slutten av juli til begynnelsen av august (Magerøy et al. 2019, 2022a, 2022b). I 2021 ble stammuslingene samlet inn fra Flotåna 05.07., Hagneselva 23.07. og Lomma 27.06.2021 (Magerøy et al. 2022b). Disse er alle ørretmuslingbestander (Larsen 2009, Magerøy & Wacker 2023, Sandaas & Enerud 2014, 2016b, Wacker et al. 2021, Katrine Sundt, pers. med.). For Flotåna og Lomma var metodene ikke egnet for å vurdere om muslingene ble befruktet i elva eller i anlegget. Ytterligere genetiske undersøkelser av produksjonen ved kultiveringsanlegget vil kunne bidra til å justere innsamlingstidsperiodene for stammusling.

Resultatene viser utfordringene vedrørende bevaring av genetisk variasjon i kultivering av elve-musling. Innsamling av 60 stammuslinger etter befruktning i elva må fortsatt anses som en metode som kan være godt egnet for å bevare den genetiske variasjonen som foreligger i bestanden, men at det etter genetiske analyser av avkommet kan vise seg utilstrekkelig. Dette betyr at det kan være behov for å gjenta produksjon med ny innsamling av gravide muslinger. Resultatene fra produksjonen med infestering i 2020 og 2021 viser at det er stor variasjon i hvor effektivt den genetiske variasjonen blir representert i avkommet og at det derfor er nødvendig å evaluere hver enkelt produksjon.

## 5 Referanser

- Ackerman, M.W., Hand, B.K., Waples, R.K., Luikart, G., Waples, R.S., Steele, C.A., Garner, B.A., McCane, J. & Campbell, M.R. 2017. Effective number of breeders from sibship reconstruction: empirical evaluations using hatchery steelhead. *Evolutionary Applications* 10(2): 146-160.
- Frankham, R. 2005. Genetics and extinction. *Biological Conservation* 126(2): 131-140.
- Garlie, S. 2010. Utvikling av mikrosatelitt multipleks PCR for genetiske studier av *Margaritifera margaritifera*. MSc. Høgskolen i Hedmark.
- Geist, J., Rottmann, O., Schröder, W. & Kühn, R. 2003. Development of microsatellite markers for the endangered freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* L. (Bivalvia : Unionoidea). *Molecular Ecology Notes* 3(3): 444-446.
- Goudet, J. 2005. HIERFSTAT, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular Ecology Notes* 5(1): 184-186.
- Gregersen, H. 2018. Elvemusling i dypområder i Numedalslågen. Oppstrøms Hvitvingfoss. Norconsult Feltrapport 5195498-01.
- Hoffmann, A.A., Sgro, C.M. & Kristensen, T.N. 2017. Revisiting Adaptive Potential, Population Size, and Conservation. *Trends Ecol Evol* 32(7): 506-517.
- Jombart, T. 2008. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24(11): 1403-1405.
- 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.
- Jones, O.R. & Wang, J.L. 2010. COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Molecular Ecology Resources* 10(3): 551-555.
- Karlsson, S. & Larsen, B.M. 2013. Genetiske analyser av elvemusling *Margaritifera margaritifera* (L.) – et nødvendig verktøy for riktig forvaltning av arten.
- Karlsson, S., Larsen, B.M., Eriksen, L. & Hagen, M. 2013. Four methods of nondestructive DNA sampling from freshwater pearl mussels *Margaritifera margaritifera* L. (Bivalvia: Unionoidea). *Freshwater Science* 32(2): 525-530.
- Karlsson, S., Larsen, B.M. & Hindar, K. 2014. Host-dependent genetic variation in freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.). *Hydrobiologia* 735(1): 179-190.
- Karlsson, S., Larsen, B.M., Balstad, T., Eriksen, L. & Hagen, M. 2016. Elvemusling - evaluering av en kultiveringsmetode. NINA Rapport 1257.
- Larsen, B.M. 2009. Karlegging av elvemusling i Figgjovassdraget, Rogaland. Utbredelse og bestandsstatus. NINA Minirapport 274. Norsk institutt for naturforskning.
- Larsen, B.M. 2017. Overvåking av elvemusling i Norge. Oppsummering av det norske overvåkingsprogrammet i perioden 1999-2015. NINA Rapport 1350. Norsk institutt for naturforskning.
- Magerøy, J.H. & Larsen, B.M. 2021. Overvåking av elvemusling i Figgjovassdraget. Regional overvåking i Rogaland. NINA Rapport 2028. Norsk institutt for naturforskning.
- Magerøy, J.H. & Wacker, S. 2023. Har utsetting av ørret infektert med muslinglarver bidratt til etablering av nye elvemuslingbestander? Genetiske undersøkelser. NINA Rapport 2134. Norsk institutt for naturforskning.
- Magerøy, J.H., Kålås, S., Wathne, I., Rikstad, A. & Julien, K. 2019. Del 2. Utsetting av kultivert elvemusling. 2016-2018. S. 13-111 i: Jakobsen, P. (red.). 2019. Samlerapport om kultivering og utsetting av elvemusling. 2018. Universitetet i Bergen, Institutt for biologi, Rapport til Miljødirektoratet og Fylkesmannen i Hordaland.
- Magerøy, J.H., Kålås, S. & Sundt, K.Å. 2022a. Kultivering av elvemusling. Frislipp av kultivert musling samt innsamling og tilbakeføring av stammusling i 2022. NINA Prosjektnotat 410. Norsk institutt for naturforskning.

- Magerøy, J.H., Kålås, S. & Sundt, K.Å. 2022b. Kultivering av elvemusling. Frislipp av kultivert musling samt innsamling og tilbakeføring av stammusling i 2022. NINA Prosjektnotat 410. Norsk institutt for naturforskning.
- Reed, D.H. & Frankham, R. 2003. Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology* 17(1): 230-237.
- Sandaas, K. & Enerud, J. 2009. Kartlegging av elvemusling *Margaritifera margaritifera* i Vestfold, 2009. Naturfaglige Konsulent tjenester & Fisk- og Miljøundersøkelser, Rapport.
- Sandaas, K. & Enerud, J. 2014. Elvemusling *Margaritifera margaritifera* i Lomma, Sandviksvassdraget, Bærum kommune, Oslo og Akershus 2014. Naturfaglige Konsulent tjenester & Fisk- og Miljøundersøkelser, Rapport.
- Sandaas, K. & Enerud, J. 2016a. Elvemusling *Margaritifera margaritifera* i sidevassdrag til Numedalslågen, Larvik kommune, Vestfold 2015. Naturfaglige Konsulent tjenester & Fisk- og Miljøundersøkelser, Rapport.
- Sandaas, K. & Enerud, J. 2016b. Elvemusling i Sandvikselva og Lysakerelva, Oslo og Bærum kommuner, Akershus 2015. Naturfaglige Konsulent tjenester & Fisk- og Miljøundersøkelser, Rapport.
- Simonsen, L. & Johansson, G.R. 2008. Registrering av elvemusling (*Margaritifera margaritifera*) i Storelva i Goksjøvassdraget. Naturplan, Rapport.
- Wacker, S., Larsen, B.M., Jakobsen, P.J. & Karlsson, S. 2018. High levels of multiple paternity in a spermcast mating freshwater mussel. *Ecology & Evolution* 00: 1-9.
- Wacker, S., Larsen, B.M., Jakobsen, P.J. & Karlsson, S. 2019. Multiple paternity promotes genetic diversity in captive breeding of a freshwater mussel. *Global Ecology and Conservation* 17: e00564.
- Wacker, S., Larsen, B.M., Magerøy, J.H., Hagen, I.J., Kålås, S. & Karlsson, S. 2021. Genetisk struktur og variasjon i elvemusling i Norge. Betydning for bestandenes økologiske tilstand. Norsk institutt for naturforskning (NINA).
- Wacker, S., Aronsen, T., Hagen, I.J., Karlsson, S., Berntsen, H.H., Skoglund, H., Solem, Ø., Sægrov, H. & Ugedal, O. 2022. Estimering av effektivt antall gytefisk fra stikkprøver av ungfisk av laks - Betydning av antall genetiske markører, antall prøver og romlig fordeling. HydroCen rapport 28. Norwegian Research Centre for Hydropower Technology.
- Wacker, S. & Karlsson, S. 2023. Genetisk overvåkning av anleggsprodusert elvemusling. Infestasjoner 2020. Norsk institutt for naturforskning (NINA).





*Norsk institutt for naturforskning, NINA, er en uavhengig stiftelse som forsker på natur og samspillet natur–samfunn.*

*NINA ble etablert i 1988. Hovedkontoret er i Trondheim, med avdelingskontorer i Tromsø, Lillehammer, Bergen og Oslo. I tillegg driver NINA Sæterfjellet avlsstasjon for fjellrev på Oppdal, og forskningsstasjonen for vill laksefisk på lms i Rogaland.*

*NINAs virksomhet omfatter både forskning og utredning, miljøovervåking, rådgivning og evaluering. NINA har stor bredde i kompetanse og erfaring med både naturvitere og samfunnsvitere i staben. Vi har kunnskap om artene, naturtypene, samfunnets bruk av naturen og sammenhenger med de store drivkreftene i naturen.*

ISSN:1504-3312  
ISBN: 978-82-426-5207-2

## Norsk institutt for naturforskning

NINA Hovedkontor

Postadresse: Postboks 5685 Torgarden, 7485 Trondheim

Besøks-/leveringsadresse: Høgskoleringen 9, 7034 Trondheim

Telefon: 73 80 14 00, Telefaks: 73 80 14 01

E-post: [firmapost@nina.no](mailto:firmapost@nina.no)

Organisasjonsnummer 9500 37 687

<http://www.nina.no>



Samarbeid og kunnskap for framtidens miljøløsninger