

2022-02-15

Delrapportering av uppdragen (*dnr 2007-21; 01601-2021; 02213-2020*):

Kust och utsjöinteraktioner, sill/strömmingsgenetik:

Preliminär rapportering avseende frågeställningen: finns det genetiska skillnader bland vårlekande strömming i ICES-områdena 27 och 29?

Lovisa Wennerström¹, Anastasia Andersson², Jason Hill^{1,3}, Iris Dahlin¹, Gunnar Ståhl^{2,4}, Nils Ryman² & Linda Laikre²

¹Inst. för akvatiska resurser (SLU Aqua), Sötvattenslaboratoriet, SLU

²Zoologiska institutionen, Avdelningen för populationsgenetik, Stockholms universitet

³Institutionen för medicinsk biokemi och mikrobiologi, Jämförande genetik och funktionell genomik, Uppsala universitet

⁴Biolab, Skogsslingan 26, Skärholmen

Sammanfattning

Syftet med denna pilotstudie har varit att besvara frågan om det finns genetiska skillnader mellan lekande strömming från olika platser längs östersjökusten inom ICES-delområden 27 och 29. För att belysa frågan har två huvudsakliga dataset använts. Dels har data tidigare publicerade i Han et al. (2020) använts (tre prover från delområdena 27 och 29 ingår), och dels har nytt material som samlats in under 2021 inom ramen för här delredovisade uppdrag använts. Det nya materialet omfattar 789 lekmogna strömmingar/sillar (gonadstadie 6) infångade på 21 platser längs östersjökusten som har analyserats med 47 genetiska markörer (så kallade SNPs) under december 2021-januari 2022. I materialet ingår sex fångstplatser från ICES-delområde 29 och fem fångstplatser från delområde 27 där antalet lekmogna fiskar är minst 20 per fångstplats. Samtliga dessa prover rör vårlekande bestånd. Övriga 10 prover har ingått som jämförelse och kommer från höstlekare (två prov från en och samma fångstplats) samt från vårlekare i ICES-delområdena 25, 30 och 31.

Stora genetiska skillnader mellan vår- och höstlekande bestånd observeras och genetiska skillnader mellan vårlekande strömming från olika lokaler längs östersjökusten upptäcks också i flera fall. Vad gäller delområdena 27 och 29 finner vi statistiskt säkerställda övergripande genetiska skillnader mellan provlokaler inom dessa områden. När vi betraktar vart och ett av dessa områden separat finner vi säkerställda skillnader inom 27 men inte inom 29. Vid parvisa jämförelser mellan prover inom dessa områden hittar vi dock säkerställda skillnader inom både 27 och 29.

Huvudslutsatsen är att genetiska skillnader finns mellan bestånden av vårlekande strömming inom ICES-delområdena 27 och 29. Framför allt finns tecken på att enskilda, genetiskt avvikande bestånd kan förekomma inom dessa områden.

1. Bakgrund, syfte och frågeställning

Det här rapporterade arbetet avser en mindre del av uppdraget dnr 2007-21 som i sin helhet syftar till att kartlägga populationsgenetisk struktur hos lekande sill och strömning längs östersjökusten. Denna information är central för en hållbar förvaltning som säkerställer att den genetiska variationen hos arten inte utarmas, utan bibehålls för att ge goda förutsättningar för anpassningar och långsiktig livskraft.

Under projektets första år (2021) har ett stort antal prover av sill och strömning från lekande bestånd längs större delen av östersjökusten fångats av kustfiskare och provtagits på Zoologiska institutionens laboratorium vid Stockholms universitet (<https://stromminginsamlingen.wordpress.com/blog/>) och vid SLU, institutionen för akvatiska resurser. Samtidigt har ett arbete med att identifiera lämpliga genetiska markörer för fortsatt analys av materialet utförts i samarbete med professor Leif Andersson, Uppsala universitet. Detta arbete kommer inom kort att slutföras och i ett nästa steg kommer en större analys av insamlade prover att utföras under 2022.

Havs- och vattenmyndigheten har dock redan innan den stora kartläggningen genomförts efterfrågat en preliminär analys avsedd att belysa huruvida det finns genetiska skillnader mellan vårlekande bestånd av strömning i ICES-delområdena 27 och 29. Denna preliminära analys redovisas här. Analysen omfattar en mindre del av det totalt insamlade materialet som analyserats med ett begränsat antal genetiska markörer som varit möjliga att använda under den begränsade tid som funnits tillgänglig. Dessutom har redan publicerade data från en vetenskaplig studie av Han et al. publicerad år 2020 använts.

Den huvudfrågeställning som belyses är: finns det genetiska skillnader mellan vårlekande strömning insamlad på olika platser längs kusten i ICES-delområdena 27 och 29?

1.1 Genetisk variation hos sill och strömning

Sill och strömning har några av de största populationsstorlekarna av alla ryggradsdjur (Dickey-Collas et al. 2010), vilket leder till låg genetisk drift och små genetiska skillnader mellan populationer räknat över hela genomet (arvsmassan). Liksom hos många marina fiskarter är bestånden heller inte isolerade från varandra, utan ett visst genflöde mellan populationer förekommer (i Kongsstovu et al. 2022). Sammantaget resulterar detta i att genetiska skillnader mellan populationer hos sill och strömning historiskt sett har varit mycket svåra att upptäcka (Andersson et al. 1981; Ryman et al. 1984). Fram till för ca tio år sedan användes framför allt metoder där bara några få loci (platser på genomet), ej påverkade av selektion, studerades. Med dessa metoder kunde endast mycket små skillnader mellan olika bestånd av sill och strömning upptäckas (e.g. Larsson et al. 2007; Jorgensen et al. 2007).

Först på senare år, när sekvenseringstekniker där större delar eller hela genom kan sekvenseras, har det blivit möjligt att studera beståndsstruktur hos sill och strömning mer i detalj. I loci som är utsatta för selektion och anpassning till lokala förhållanden har stora genetiska skillnader kunnat påvisas mellan populationer. Dessa genetiska skillnader är bland annat associerade med övergången från Atlanten till Östersjön (Lamichhaney et al. 2012; Martinez-Barrio et al. 2016), anpassningar i specifika gener kopplade till

ljusreceptorer (Hill et al. 2019) och flera SNPs kopplade till ekologiska anpassningar, framför allt till lektid (Han et al. 2020).

2. Material

Två olika dataset har använts för att belysa aktuell frågeställning. Det första (**avsnitt 3**) omfattar **nya data som genererats under 2021-2022** inom ramen för pågående uppdrag (dnr *dnr 2007-21; 01601-2021; 02213-2020*). Det är en begränsad del av insamlat material som ”snabbanalyserats” preliminärt för att kunna belysa den aktuella frågeställningen. Fortsatta och mer omfattande analyser av det insamlade materialet kommer att ske under 2022.

Det andra materialet som använts i denna rapport utgörs av redan publicerade data från Han et al. (2020; avsnitt 4 nedan). Detta material har inkluderats eftersom det innefattar tre prover från de ICES-delområden som nu står i fokus.

3. Analys av nya data från 2021-2022

Totalt har över 9400 sill och strömmingar samlats in och provtagits under 2021. Provtagningen avslutades i januari 2022. Ungefär 45% av dessa fiskar har visat sig vara i gonadstadiet 6, det vill säga i lek (för en beskrivning av könsutvecklingsstadier se Buchholz et al. 2008). Fortsatt arbete med detta material sker under 2022.

Under hösten 2021, medan provtagningen pågick, valdes ett mindre material av provtagna individer ut för en första genetisk kartläggning i 47 SNP-loci som tagits fram av professor Leif Anderssons grupp vid Uppsala universitet i syfte att skilja mellan höst- och vårlekande bestånd. Dessa markörer var de som var möjliga att använda inom den snäva tidsram som stod till buds för den preliminära analys och rapportering som efterfrågades av Havs- och vattenmyndigheten.

Av det begränsade material som var möjligt att genotypa snabbt under vintern 2021-2022 redovisas här data från 789 individer från totalt 22 stickprov med *minst 20 genotypade individer i gonadstadiet 6 per stickprov där varje individ har en call-rate ≥ 0.8* (minst 80% av de genetiska markörerna är framgångsrikt genotypade hos individen). Vi valde lekmogna individer med gonadstadiet 6 eftersom fångstplatsen då med största sannolikhet speglar fiskens lekplats.

Geografiskt läge av fångstplatserna för de 22 stickprov som ingår visas i **Figur 1**. Elva av dessa stickprov kommer från ICES-delområdena 27 och 29 (358 individer totalt) och dessa visas förutom i Figur 1 även i en förstoring i **Figur 2**. Skälet till att vi även tog med andra områden än ICES-delområde 27 och 29 samt även prov från höstlekare var för att kunna relatera eventuella skillnader inom 27 och 29 till skillnader inom och mellan andra delområden.



Figur 1. Insamlingsplatser för sill- och strömmingsprover som använts för den här rapporterade preliminära kartläggningen. Proverna är alla insamlade under 2021 och de betecknas med förkortningen av länen de härstammar från (mer information i **Tabell 1**). Färgkodningen anger vilka ICES-delområden som fångstplatserna ligger i. Alla prover representerar vårlekare förutom Upp10 och Upp11 som utgörs av höstlekare. Ble10, Ble17 och Ble24 består av sill, övriga prover av strömming. Från samtliga provlokaler ingår minst 20 lekmogna individer (**Tabell 1**).

3.1 Material och metoder – nya data från 2021-2022

Proverna som analyserats är på vårt uppdrag insamlade av kustfiskare under våren, sommaren och hösten 2021. Proverna har frysts så snabbt som möjligt efter fångst och i fruset tillstånd hämtats på plats och förts till något av våra laboratorier vid Stockholms universitet respektive vid SLU Aquas Kustlaboratorium i Öregrund. Provtagning har främst skett vid Stockholms universitet efter upplärning av personal hos Kustlaboratoriet. Vävnadsprover för genetisk analys togs med ett nålinstrument (SAFE® 1-Channel De-/Capper/Picker for Screw Caps XT (96 SBS)) som är utformat för att ta ett 30 mg vävnadsprov utan ytkontamination. Dessa biopsiprover förvarades i 85% etanol i frys (minus 80°C) fram till transport till IdentiGENs laboratorium (Ltd., Dublin, Irland; identigen.com) där DNA-extraktioner och SNP-genotypningar i 47 loci genomfördes (loci från professor Leif Andersson, Uppsala universitet). Genotypdata från IdentiGEN erhöles sen eftermiddag den 4 februari 2022.

Detaljerad information om de prover som använts redovisas i **Tabell 1**. Totalt rör det sig om 789 lekmogna sill och strömmingar fördelade på 22 prover insamlade från 21 provplatser (notera att proverna Upp10 och Upp11 av höstlekande är två prover tagna på samma position med fem dagars mellanrum; **Tabell 1**). Provplatserna representerar fem olika ICES-områden (**Figur 1**). Vid genotypningen har dessa 789 individer en genomsnittlig call-rate på 97%.

Från ICES-delområdena 27 och 29 ingår totalt 11 prover. Sex av dessa prover härstammar delområde 29 (totalt 174 individer, 23-41 individer per prov; Tabell 1) och fem av dem kommer ifrån delområde 27 (totalt 184 individer, 24-72 per prov).



Figur 2. Fångsplatser av strömmingsprover i ICES-delområden 27 och 29. Provernas identifierings-namn är förkortningen av länen de härstammar från (lokallnamn av fångstplatserna finns i **Tabell 1**). Proverna är färgkodade för att ange vilket ICES-område de hör till. Stickprovsstorlekarna per prov varierar mellan 23 och 72 (Tabell 1).

F_{ST} -värden (F_{ST} skattar grad av genetisk skillnad) beräknades och testades statistiskt i programmet Genepop 4.7.5 (Rousset 2008) med parvisa F_{ST} -värden mellan de 22 stickproven, samt med övergripande F_{ST} mellan prover som ingår i olika områdesindelningar (hela materialet, endast vårlekare, endast ICES-delområdena 27 och 29 samt inom vardera av delområdena 27 och 29). Parvisa F_{ST} -värden testades statistiskt med ett exakt G-test i Genepop och detta test användes även för att signifikanspröva övergripande F_{ST} -värden. En högre statistisk styrka kan dock erhållas med ett angreppssätt beskrivet av Ryman et al. (2006) där traditionellt chi-2-värde beräknas per locus och erhållna P -värden kombineras med hjälp av Fisher's exakta metod. Programmet Chifish (Ryman 2006) kan användas för denna testmetod men den korta tiden som har stått till förfogande för analyser har inte gjort det möjligt att använda denna testprocedur i samtliga fall. Vi har använt Chifish-metoden för att signifikanspröva de övergripande F_{ST} -värdena samt för parvisa tester inom fokusområdena 27 och 29 kombinerat samt var och en för sig.

Ett fylogenetiskt träd som bygger på Nei's D_A distance (ett mått på genetiskt avstånd mellan grupper; Nei et al. 1983) konstruerades för att illustrera förhållandet mellan de 22 stickproven med hjälp av programmen POPTREE2 (Takezaki et al. 2009), och MEGAX 10.0.5 (Kumar et al. 2018). Det fylogenetiska trädet baseras på 47 SNP loci och är uppbyggt med

neighbor joining-metoden med 1000 bootstrap-upprepningar. Ett motsvarande träd gjordes även för endast proverna från ICES-delområdena 27 och 29.

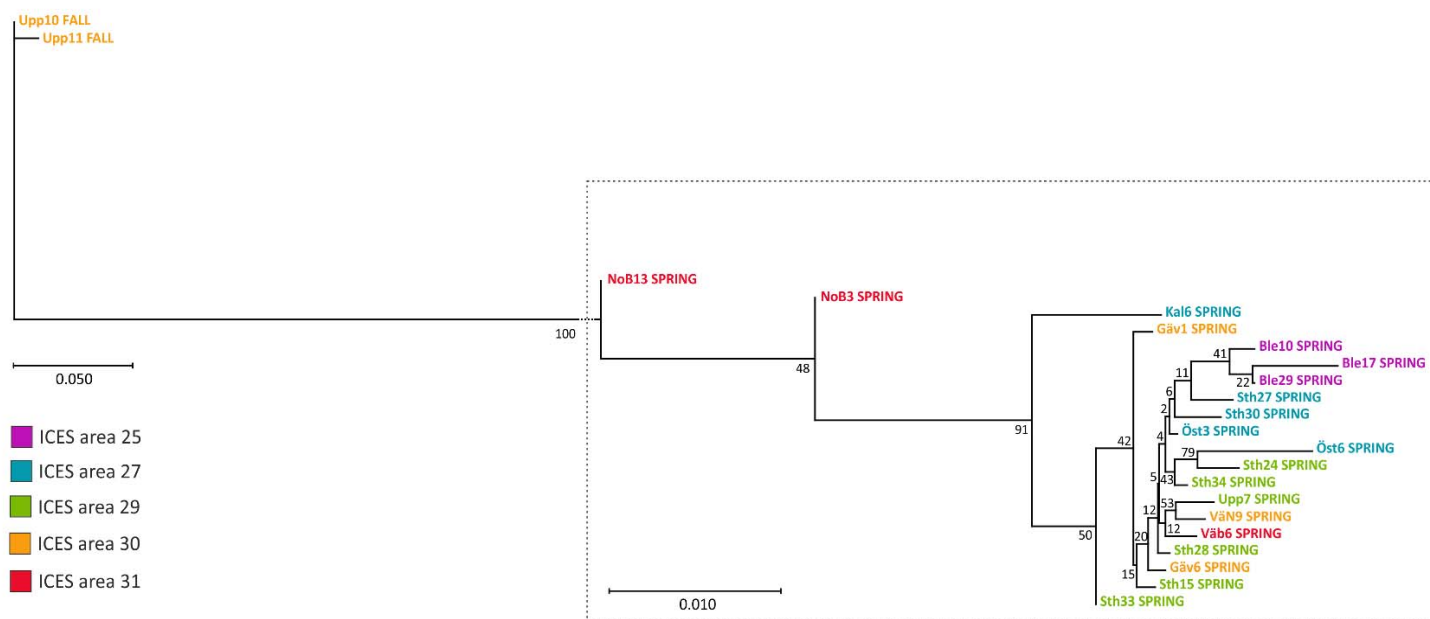
Tabell 1. Information om sill och strömmingsprover som använts i denna preliminära analys. Samtliga individer är klassificerade till gonadstadium 6 (lek pågående). Två prover av höstlekande strömming ingår; båda fångade på samma lokal med fem dagars mellanrum (Upp10, Upp11). Proverna från ICES-delområdena 27 och 29 som står i fokus i denna delrapport är markerade med fetstil.

| ICES-område | Prov-id | Lokalnamn | Longitud | Latitud | Datum för insamling | Lekperiod | Stickprovsstorlek |
|-------------|--------------|-----------------------|-------------------|------------------|---------------------|---------------|-------------------|
| 31 | NoB3 | Vålmen | 65.70 | 23.466666 | 2021-06-23 | Vår | 37 |
| 31 | NoB13 | Esterön | 65.560789 | 22.815155 | 2021-07-08 | Vår | 27 |
| 31 | Väb6 | Stöckesgrund | 63°37,5 | 20°16,2 | 2021-07-14 | Vår | 40 |
| 30 | VÄN9 | Sörbådan | 62.539616 | 17.89325 | 2021-07-05 | Vår | 30 |
| 30 | Gäv1 | Fatbotten | 61.901111 | 17.412777 | 2021-06-03 | Vår | 40 |
| 30 | Gäv6 | Strandske udden | 61.549833 | 17.113833 | 2021-06-17 | Vår | 35 |
| 30 | Upp10 | Sillrabben | 60°41.76 | 17°19.25 | 2021-09-15 | Höst | 57 |
| 30 | Upp11 | Sillrabben | 60°41.76 | 17°19.25 | 2021-09-20 | Höst | 47 |
| 29 | Upp7 | Bredbådan | 60.478273 | 18.151393 | 2021-06-15 | Vår | 26 |
| 29 | Sth15 | Skogskäret | 60.2419411 | 18.78166 | 2021-06-02 | Vår | 27 |
| 29 | Sth28 | Kvarnsand | 60.07916 | 18.83333 | 2021-06-07 | Vår | 41 |
| 29 | Sth24 | Studsoda | 59.921846 | 18.887158 | 2021-05-13 | Vår | 28 |
| 29 | Sth34 | Gräddö | 59.772127 | 19.007678 | 2021-06-10 | Vår | 29 |
| 29 | Sth33 | Räfsnäs | 59.758902 | 19.084582 | 2021-06-11 | Vår | 23 |
| 27 | Sth30 | Kobussören | 59.775757 | 18.962574 | 2021-06-19 | Vår | 34 |
| 27 | Sth27 | Möja | 59.416666 | 18.916666 | 2021-06-04 | Vår | 27 |
| 27 | Öst3 | Hovelsö | 58.396666 | 16.936666 | 2021-05-26 | Vår | 72 |
| 27 | Öst6 | Kråkviken | 58.047836 | 16.741539 | 2021-05-10 | Vår | 24 |
| 27 | Kal6 | Havike fjärden | 57°48,64 | 16°42,66 | 2021-05-31 | Vår | 27 |
| 25 | Ble17 | Bollösand | 56°06,82 | 15°29,42 | 2021-06-14 | Vår | 28 |
| 25 | Ble29 | Saltö | 56°09,753 | 15°33,475 | 2021-06-02 | Vår | 50 |
| 25 | Ble10 | Flatskären | 56°08,60 | 15°44,00 | 2021-05-31 | Vår | 40 |
| | | | | | | Totalt | 789 |

3.2 Resultat – nya data från 2021-2022

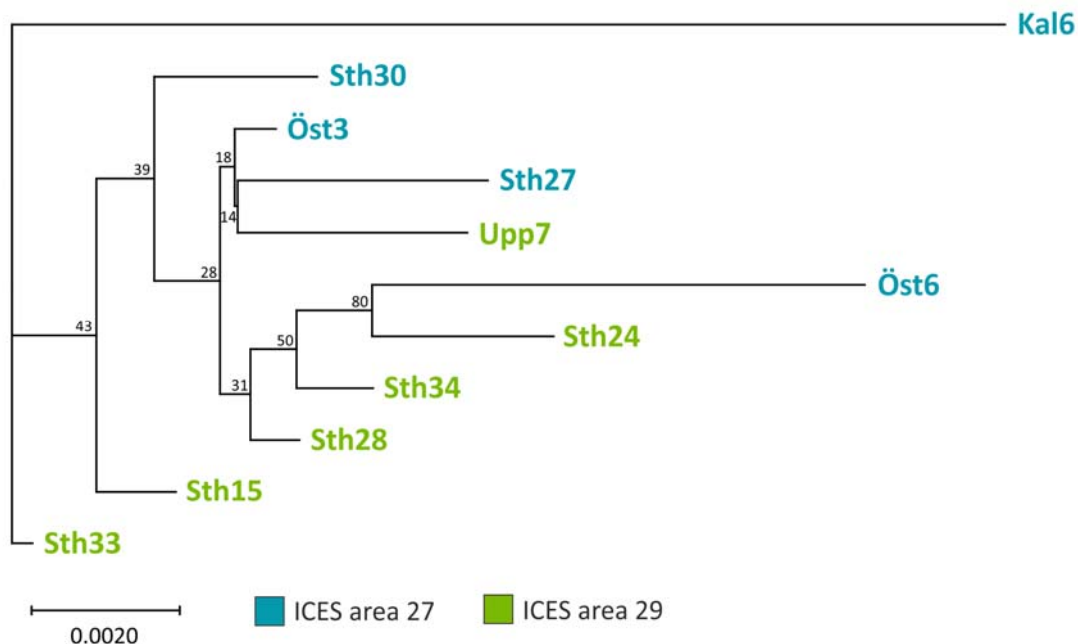
Det fylogenetiska trädet visar på en tydlig uppdelning mellan höstlekande och vårlekande sill- och strömmingsbestånd (**Figur 3**). Bland de vårlekande bestånden syns differentiering mellan de nordligaste lokalerna (NoB 3 och NoB13) och övriga. Bland sydligare lokaler

avviker Kal6 (från ICES-delområde 27) från övriga stickprov. Proverna som representerar sill (Ble10, Ble17 och Ble29) bildar en egen gren.



Figur 3. Ett fylogenetiskt träd som illustrerar det genetiska förhållandet mellan stickprov från ICES-delområde 25, 27, 29, 30 och 31. Trädet bygger på Nei's D_A distance (ett mått på genetiskt avstånd); bootstrap-värden (i procent) längs grenarna anger sannolikheten för förgreningarnas existens. Notera att trädet är uppdelat i två delar som har olika skalor för grenlängd.

I **Figur 4** visas ett fylogenetiskt träd som endast inkluderar ICES-delområdena 27 och 29.



Figur 4. Ett fylogenetiskt träd som inkluderar proverna från ICES-delområdena 27 och 29. Trädet bygger på Nei's D_A distance (ett mått på genetiskt avstånd); bootstrap-värden (i procent) längs grenarna anger sannolikheten för förgreningarnas existens.

Övergripande F_{ST} -värden presenteras i **Tabell 2** och genomsnittligt F_{ST} över alla 22 prover är 0.28 vilket är ett högt värde som är starkt statistiskt säkerställt. Framst beror det höga värdet på stora skillnader mellan höst- och vårlekare.

Inom gruppen vårlekare är genomsnittligt $F_{ST}=0.019$ och även det starkt signifikant. I det närmaste lika högt $F_{ST}=0.016$ upptäcks inom ICES-delområden 27 och 29 tillsammans (starkt signifikant). När område 27 undersöks separat upptäcks klara skillnader inom detta område med genomsnittligt $F_{ST}=0.032$ mellan prover (starkt signifikant), medan inom område 29 är övergripande F_{ST} mycket lågt och ej statistiskt säkerställt (Tabell 2).

Den genetiska strukturen inom delområde 27 respektive inom 27 och 29 tillsammans beror inte enbart på det genetiskt avvikande beståndet i Kal6. När detta prov tas bort ur analysen kvarstår statistiskt säkerställda skillnader inom dessa delområden även om det övergripande F_{ST} -värdet då är väsentligt lägre (Tabell 2).

Tabell 2. Totalt F_{ST} inom olika grupperingar av materialet. Signifikansprövningen har gjorts med två olika approacher (se avsnitt 3.1). De två sista raderna visar analyserna när provet Kal6 som visar tydliga avvikelser från övriga prover (se Figur 3,4; Tabell 3,4) har exkluderats.

| Material | Antal individer | F_{ST} | p -värde (Genepop) | p -värde (ChiFish) |
|-------------------------------------|-----------------|--------------|----------------------|----------------------|
| Totalmaterialet | 789 | 0.275 | 0.000 | 0.000 |
| Bara vårlekande | 685 | 0.019 | 0.000 | 0.000 |
| ICES-delområde 27 och 29 | 358 | 0.016 | 0.000 | 0.000 |
| ICES-delområde 27 | 184 | 0.032 | 0.000 | 0.000 |
| ICES-delområde 29 | 174 | 0.000 | 0.496 | 0.654 |
| ICES-delområde 27 och 29 exkl. Kal6 | 331 | 0.003 | 0.007 | 0.007 |
| ICES-delområde 27 exkl. Kal6 | 157 | 0.006 | 0.003 | 0.006 |

Parvisa F_{ST} -värden visar motsvarande genetiska struktur som det fylogenetiska trädets (**Tabell 3**). De största genetiska skillnaderna återfinns mellan höst- och vårlekande bestånd där F_{ST} -värdena baserat på de använda 47 loci var mycket höga (0.50-0.60). Mellan havsområden finns också många signifikanta skillnader och relativt höga F_{ST} -värden.

Tabell 3. Parvisa F_{ST} -värden mellan prover med individer i gonadstadie 6 (pågående lek) och provstorlek >20 . Proverna är sorterade från norr till söder inom ICES-delområdena, men prover från höstlekande strömning (delområde 30) är placerade sist (längst till höger respektive längst ner). Statistiskt signifikanta jämförelser är skuggade. Statistiska tester här utförda med hjälp av programmet Genepop. (SD =delområde). Negativa F_{ST} -värden tolkas som $F_{ST}=0$.

| | NoB13 | NoB3 | Väb6 | Vän9 | Gäv1 | Gäv6 | Upp7 | Sth15 | Sth28 | Sth24 | Sth34 | Sth33 | Sth30 | Sth27 | Öst3 | Öst6 | Kal6 | Ble29 | Ble10 | Ble17 | Upp10 | Upp11 | |
|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| NoB13 | | | SD 31 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| NoB3 | 0.008 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Väb6 | 0.014 | 0.011 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Vän9 | 0.023 | 0.019 | 0.001 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Gäv1 | 0.022 | 0.017 | 0.002 | 0.009 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Gäv6 | 0.022 | 0.021 | 0.001 | 0.012 | -0.003 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Upp7 | 0.010 | 0.014 | -0.001 | -0.001 | 0.006 | 0.008 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sth15 | 0.030 | 0.017 | -0.001 | 0.005 | -0.004 | -0.007 | 0.007 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sth28 | 0.023 | 0.016 | -0.004 | 0.000 | 0.000 | -0.004 | 0.000 | -0.007 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sth24 | 0.058 | 0.050 | 0.009 | 0.020 | 0.012 | 0.003 | 0.021 | -0.001 | 0.003 | | | | | | | | | | | | | | |
| Sth34 | 0.020 | 0.026 | -0.006 | 0.000 | 0.002 | -0.004 | 0.001 | -0.006 | -0.009 | 0.001 | | | | | | | | | | | | | |
| Sth33 | 0.018 | 0.010 | -0.002 | 0.012 | -0.004 | -0.005 | 0.004 | -0.010 | -0.005 | 0.012 | -0.004 | | | | | | | | | | | | |
| Sth30 | 0.040 | 0.035 | 0.011 | 0.015 | 0.006 | 0.002 | 0.016 | 0.000 | 0.004 | 0.009 | -0.001 | -0.004 | | | | | | | | | | | |
| Sth27 | 0.028 | 0.019 | 0.001 | 0.004 | 0.013 | 0.006 | 0.000 | 0.004 | -0.002 | 0.010 | 0.003 | 0.002 | 0.008 | | | | | | | | | | |
| Öst3 | 0.027 | 0.026 | 0.002 | 0.003 | 0.007 | -0.001 | 0.000 | 0.003 | -0.002 | 0.009 | -0.002 | 0.007 | 0.005 | 0.001 | | | | | | | | | |
| Öst6 | 0.042 | 0.044 | 0.013 | 0.021 | 0.001 | -0.002 | 0.011 | 0.006 | 0.002 | 0.010 | 0.001 | 0.005 | 0.011 | 0.013 | 0.005 | | | | | | | | |
| Kal6 | 0.098 | 0.052 | 0.081 | 0.070 | 0.069 | 0.086 | 0.069 | 0.068 | 0.073 | 0.108 | 0.086 | 0.053 | 0.064 | 0.060 | 0.086 | 0.106 | | | | | | | |
| Ble29 | 0.044 | 0.036 | 0.026 | 0.034 | 0.019 | 0.019 | 0.024 | 0.019 | 0.022 | 0.036 | 0.024 | 0.007 | 0.012 | 0.011 | 0.028 | 0.026 | 0.038 | | | | | | |
| Ble10 | 0.038 | 0.037 | 0.020 | 0.026 | 0.019 | 0.018 | 0.017 | 0.020 | 0.017 | 0.027 | 0.025 | 0.017 | 0.020 | 0.007 | 0.017 | 0.026 | 0.067 | 0.009 | | | | | |
| Ble17 | 0.061 | 0.046 | 0.049 | 0.055 | 0.041 | 0.038 | 0.038 | 0.041 | 0.042 | 0.063 | 0.050 | 0.027 | 0.028 | 0.023 | 0.042 | 0.048 | 0.042 | 0.005 | 0.007 | | | | |
| Upp10 | 0.564 | 0.549 | 0.607 | 0.628 | 0.617 | 0.627 | 0.624 | 0.625 | 0.624 | 0.664 | 0.636 | 0.597 | 0.628 | 0.628 | 0.638 | 0.668 | 0.591 | 0.600 | 0.627 | 0.616 | | | Höst |
| Upp11 | 0.569 | 0.552 | 0.612 | 0.636 | 0.623 | 0.633 | 0.632 | 0.633 | 0.630 | 0.672 | 0.644 | 0.603 | 0.635 | 0.637 | 0.643 | 0.678 | 0.602 | 0.606 | 0.635 | 0.625 | 0.003 | | |

F_{ST} (%) NS 0-2.5 2.5-5 5-7.5 7.5-10 >10
 NS=non significant= ej signifikant

Inom respektive ICES-delområde föreligger flera fall av statistiskt säkerställda skillnader mellan parvisa prover, till exempel inom delområdena 31, 27 och även 29 (Tabell 3).

Vi har även använt ”Chifish-metoden” (som har särskilt hög statistisk styrka; Ryman et al. 2006) för parvisa jämförelser av prover, inom ICES-delområden 27 och 29 (Tabell 4). Med den metoden observeras fler signifikanta parvisa skillnader inom båda dessa områden. Exempelvis blir avvikelser hos Öst6 nu mer tydliga (Tabell 4).

Tabell 4. Parvisa F_{ST} -värden mellan prover med individer i gonadstadie 6 (pågående lek) och provstorlek >20 från ICES-delområde 27 och 29, med proverna sorterade från norr till söder inom område. Statistiskt signifikanta jämförelser är skuggade. Statistiska tester är utförda med hjälp av programmet Chifish. Negativa F_{ST} -värden tolkas som $F_{ST}=0$.

| | Upp7 | Sth15 | Sth28 | Sth24 | Sth34 | Sth33 | Sth30 | Sth27 | Öst3 | Öst6 | Kal6 |
|-------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|------|
| Upp7 | - | | | | | | | | | | |
| Sth15 | 0.007 | - | | | | | | | | | |
| Sth28 | 0.000 | -0.007 | - | | | | | | | | |
| Sth24 | 0.021 | -0.001 | 0.003 | - | | | | | | | |
| Sth34 | 0.001 | -0.006 | -0.009 | 0.001 | - | | | | | | |
| Sth33 | 0.004 | -0.010 | -0.005 | 0.012 | -0.004 | - | | | | | |
| Sth30 | 0.016 | 0.000 | 0.004 | 0.009 | -0.001 | -0.004 | - | | | | |
| Sth27 | 0.000 | 0.004 | -0.002 | 0.010 | 0.003 | 0.002 | 0.008 | - | | | |
| Öst3 | 0.000 | 0.003 | -0.002 | 0.009 | -0.002 | 0.007 | 0.005 | 0.001 | - | | |
| Öst6 | 0.011 | 0.006 | 0.002 | 0.010 | 0.001 | 0.005 | 0.011 | 0.013 | 0.005 | - | |
| Kal6 | 0.069 | 0.068 | 0.073 | 0.108 | 0.086 | 0.053 | 0.064 | 0.060 | 0.086 | 0.106 | - |

F_{ST} (%) Ej sign. 0-2.5 >2.5-5 >5-7.5 >7.5-10 >10

Sammantaget finns tydliga indikationer på genetisk struktur hos sill och strömning längs östersjökusten. Sådan struktur observeras även inom delområdena 27 och 29.

4. Analys av tidigare publicerade data från Han et al. 2020

4.1 Material och metoder – data från Han et al. 2020

Data från 12 stickprov av sill/strömning i svenska vatten från Han et al. (2020) hämtades från digitala datalagringsplattformen Dryad (<https://doi.org/10.5061/dryad.pnvx0k6kr>). Stickproven representerade framför allt vårlekande sill och strömning, men även en sommarlekande population från Gävlebukten och två höstlekande populationer från Gävlebukten och Bornholm (**Tabell 5**). Två dataset analyserades: ett innehållande allelfrekvenser i 169 934 genetiska SNP-markörer spridda över hela arvsmassan (genomet) och ej tydligt påverkade av selektion, samt ett innehållande 794 SNPs kopplade till ekologiska anpassningar (Han et al. 2020). Från dessa allelfrekvenser räknade vi ut parvisa F_{ST} -värden (F_{ST} skattar grad av genetisk skillnad) tillsammans med ett block jackknife standard error mellan alla stickprov. Varje block bestod av 5 loci. Beräkningarna utfördes i R-paketet poolstat (Gautier 2021). Standard error multiplicerades med 1.96 för att skapa ett konfidensintervall. Två stickprov kan anses vara signifikant skilda från varandra när konfidensintervallet inte inkluderar 0. Vid parvisa jämförelser där F_{ST} -värdet är positivt och konfidensintervallet inte inkluderar 0 anses proverna statistiskt signifikant skilda från varandra och därmed genetiskt skilda. Negativa F_{ST} -värden tolkas som 0, det vill säga ingen skillnad mellan populationer.

Tabell 5. Sill- och strömmingsprover från svenska vatten, inklusive Bornholm (Han et al. 2020). Informationen hämtad från Supplementary material från Han et al. (2020). ICES SD=ICES delområde. De prover som är lokaliserade i ICES-delområdena 27 och 29 är markerade i fetstil.

| ICES SD | Id | Location | Lat | Long | Spawning season | Sampling date | Sample size | Salinity (ppt) | Reference |
|-----------|-----------|-----------------------------|--------------|--------------|-----------------|-----------------|-------------|----------------|-----------|
| 31 | 1 | Kalix | 65.52 | 22.43 | Spring | 19800629 | 47 | 3 | a |
| 30 | 6 | Gävle | 60.43 | 17.18 | Summer | 20120718 | 100 | 6 | b |
| 29 | 7 | Vaxholm | 59.26 | 18.18 | Spring | 19790827 | 50 | 6 | a |
| 30 | 8 | Hästkär | 60.35 | 17.48 | Spring | 20130522 | 50 | 6 | b |
| 30 | 9 | Hudiksvall | 61.45 | 17.30 | Spring | 20120419 | 100 | 6 | b |
| 30 | 10 | Gävle | 60.43 | 17.18 | Spring | 20120507 | 100 | 6 | b |
| 30 | 11 | Gävle | 60.44 | 17.35 | Autumn | 20120904 | 100 | 6 | b |
| 27 | 12 | Gamleby | 57.50 | 16.27 | Spring | 19790820 | 49 | 7 | a |
| 27 | 13 | Kalmar | 57.39 | 17.07 | Spring | 20120509 | 100 | 7 | b |
| 25 | 14 | Karlskrona | 56.10 | 15.33 | Spring | 20120530 | 100 | 7 | b |
| 25 | 17 | Bornholm/ Central Baltic | 55.24 | 15.51 | Spring | 20111018 | 100 | 8 | b |
| 25 | 19 | Bornholm | 55.30 | 15.22 | Autumn | 20161110 | 45 | 8 | c |

a) Lamichhaney et al. 2012, b) Martínez Barrio et al. 2016, c) Hill et al. 2019

4.2 Resultat – data från Han et al. 2020

F_{ST} -värden på ej selekterade loci (169 934 SNPs) var mycket låga för sill och strömning i svenska vatten. Endast några få parvisa F_{ST} -värden var statistiskt signifikanta, alla mellan höst- och vårlekande populationer (**Tabell 6**). F_{ST} beräknat på de 794 SNPs associerade med ekologisk anpassning visade på högre F_{ST} -värden. Särskilt stora skillnader noterades

mellan prover insamlade på hösten respektive våren, men även ett flertal signifikanta skillnader observerades mellan havsområdena observerades (**Tabell 7**).

Tabell 6. Parvisa F_{ST} -värden baserat på 169934 SNPs spridda över hela genomet. Signifikanta F_{ST} -värden är skuggade. Vit färg indikerar icke-signifikanta skillnader (NS=non significant).

| | | Kalix | Hudiksvall | Gävle | Hästkär | Vaxholm | Gamleby | Kalmar | Karlskrona | Bornholm | Gävle | Gävle | Bornholm | |
|------|------------|-------|------------|--------|---------|---------|---------|------------|------------|----------|--------|--------|----------|-------|
| Vår | Kalix | | -0.002 | -0.002 | -0.006 | -0.006 | -0.004 | -0.004 | -0.004 | -0.004 | -0.003 | 0.000 | -0.001 | |
| | Hudiksvall | | | -0.003 | -0.004 | -0.003 | -0.001 | -0.003 | -0.003 | -0.002 | -0.003 | 0.001 | 0.000 | |
| | Gävle | | SD 30 & 31 | | -0.004 | -0.002 | -0.001 | -0.002 | -0.002 | -0.002 | -0.003 | 0.003 | 0.001 | |
| | Hästkär | | | | | -0.006 | -0.004 | -0.006 | -0.006 | -0.004 | -0.004 | -0.001 | -0.002 | |
| | Vaxholm | | | | | | -0.008 | -0.006 | -0.004 | -0.004 | -0.004 | 0.002 | 0.000 | |
| | Gamleby | | | | | | | SD 27 & 29 | -0.004 | -0.002 | -0.003 | -0.003 | 0.003 | 0.002 |
| | Kalmar | | | | | | | | | -0.004 | -0.003 | -0.003 | 0.001 | 0.000 |
| | Karlskrona | | | | | | | | | | -0.003 | -0.002 | 0.000 | 0.000 |
| | Bornholm | | | | | | | | | | | -0.003 | 0.003 | 0.001 |
| | Sommar | Gävle | | | | | | | | | | | 0.002 | 0.000 |
| Höst | Gävle | | | | | | | | | | | | -0.004 | |

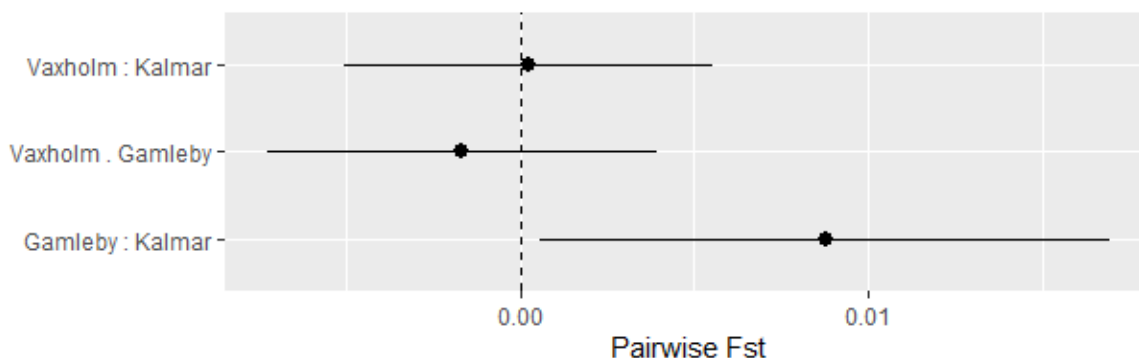
F_{ST} (%) NS 0-2.5 2.5-5 5-7.5 7.5-10 >10

Tabell 7. Parvisa F_{ST} -värden baserat på 794 SNPs associerade med ekologisk anpassning hos sill och strömming. Signifikanta F_{ST} -värden är skuggade. Vit färg indikerar icke-signifikanta skillnader (NS=non significant).

| | | Kalix | Hudiksvall | Gävle | Hästkär | Vaxholm | Gamleby | Kalmar | Karlskrona | Bornholm | Gävle | Gävle | Bornholm | |
|------|------------|-------|------------|-------|---------|---------|---------|------------|------------|----------|--------|-------|----------|-------|
| Vår | Kalix | | 0.012 | 0.008 | 0.007 | 0.024 | 0.047 | 0.017 | 0.006 | 0.006 | 0.005 | 0.082 | 0.103 | |
| | Hudiksvall | | | 0.000 | 0.000 | 0.018 | 0.034 | 0.009 | 0.003 | 0.001 | 0.007 | 0.109 | 0.127 | |
| | Gävle | | SD 30 & 31 | | 0.000 | 0.017 | 0.036 | 0.014 | 0.002 | 0.001 | 0.005 | 0.105 | 0.128 | |
| | Hästkär | | | | | 0.024 | 0.042 | 0.012 | -0.002 | 0.000 | -0.002 | 0.115 | 0.132 | |
| | Vaxholm | | | | | | -0.001 | 0.000 | 0.015 | 0.015 | 0.018 | 0.115 | 0.130 | |
| | Gamleby | | | | | | | SD 27 & 29 | 0.009 | 0.032 | 0.035 | 0.033 | 0.124 | 0.142 |
| | Kalmar | | | | | | | | 0.011 | 0.006 | 0.010 | 0.105 | 0.110 | |
| | Karlskrona | | | | | | | | | -0.004 | 0.002 | 0.101 | 0.116 | |
| | Bornholm | | | | | | | | | | SD 25 | 0.005 | 0.106 | 0.121 |
| | Sommar | Gävle | | | | | | | | | | | 0.094 | 0.112 |
| Höst | Gävle | | | | | | | | | | | | 0.018 | |

F_{ST} (%) NS 0-2.5 2.5-5 5-7.5 7.5-10 >10

Mellan de tre tillgängliga proverna från ICES-delområdena (SD) 27 och 29 var två parvisa jämförelser låga och icke-signifikanta. Mellan två prover Gamlebyviken och Kalmar fanns dock ett positivt och statistiskt signifikant F_{ST} -värde på 0.009 (**Figur 5**).



Figur 5. F_{ST} -värden i parvisa jämförelser mellan prover från -ICES-delområdena 27 och 29 baserat på 794 loci från Han et al. (2020).

4.3 Diskussion och slutsatser rörande data från Han et al. 2020

De största genetiska skillnaderna mellan sill/strömmingsbestånd i Östersjön som helhet återfinns mellan vår- och höstlekande bestånd där prover från samma område, till exempel Gävlebukten, från vår och höst visar på statistiskt signifikanta skillnader och höga F_{ST} -värden för de genetiska markörer som är associerade med ekologisk anpassning. Inom delområdena 27 och 29 är genetiska skillnader små mellan de tre stickprov som ingår. Ett av dessa prov, från lokalen Gamlebyviken, skiljde sig signifikant åt provet från Kalmar, även om måttet på genetisk differentiering (F_{ST}) är lågt. Det bör noteras att provet från Gamlebyviken samlades in 1979 och att fångstområdet enligt lokal tradition sägs ha ett unikt strömmings-bestånd.

Sammantaget finns det indikationer på viss beståndsstruktur och möjlig förekomst av lokala bestånd i delområdena 27 och 29, även om stödet för dessa är relativt svagt baserat på det material och de genetiska markörer som använts i Han et al. (2020).

5. Sammanfattande slutsatser och kommentarer

Sammantaget visar både analyserna av nya genetiska data (avsnitt 3) och av tidigare publicerade data (Han et al. 2020; avsnitt 4) på små genetiska skillnader (generellt låga F_{ST} -värden) mellan bestånd i ICES-delområde 27 och 29, men som i flera fall är statistiskt understödda och med indikationer på tydligt avvikande bestånd. **Förekomst av unika bestånd inom dessa delområden (27 och 29) stöds av här redovisade data. Ett prov, Kal6 från Havike-fjärden i Kalmar län visar påtaglig genetisk skillnad från övriga prover både inom delområden 27 och 29 liksom när materialet som helhet betraktas.** Detta prov representerar tidigare lek (maj) än majoriteten av övriga prover som ingår här. Ytterligare prover från lek i maj ingår i materialet (Öst6 och Sth24) och är bland de som avviker något mot övriga prover inom 27 och 29. Det finns skäl att i mer detalj försöka utreda eventuella genetiska skillnader mellan bestånd som leker vid olika tider även inom grupperna vår- respektive höstlekare.

I data från Han et al. (2020) är en parvis jämförelse mellan prover inom ICES-delområde 27 och 29 (mellan Gamlebyviken och Kalmar) statistiskt signifikant, även om F_{ST} -värdet är

lågt. Provet från Gamlebyviken samlades in 1979 och representerar inte lekande fisk. Dock representerar Gamlebyviken en lokal där det enligt historisk kunskap lär finnas ett unikt strömmingsbestånd. Det är en intressant observation att insamlingsplatsen för provet från Gamlebyviken år 1979 (koordinat N57°50', E16°27') ligger relativt nära insamlingsplatsen för Kal6 (koordinat N57°48,64, E16°42,66).

De största genetiska skillnaderna inom Östersjön som helhet återfinns mellan höst- och vårlekande bestånd. Även mellan Östersjöns havsområden finns betydande genetiska skillnader mellan bestånd och **vi finner alltså även tecken på genetiska skillnader mellan vårlekande strömming från olika platser längs kusten inom ICES delområden 27 och 29.**

De 47 SNPs som användes i dessa preliminära genetiska analyser är främst utvalda för att separera vårlekare från höstlekare (professor Leif Andersson, Uppsala universitet, personlig kontakt). Under 2022 planeras kompletterande analyser som både inkluderar väsentligt fler prover och fler genetiska markörer, vilka skulle kunna ge en mer detaljerad bild av den genetiska strukturen hos strömming/sill i Östersjön.

6. Tack

Vi vill tacka följande personer som bidragit mycket värdefullt till olika delar av detta arbete (alfabetisk ordning): Fredrik Andersson, Leif Andersson, Ulf Bergström, Martina Blass, Pauline Caillaud, Marju Kaljuste, Arman Lashgar, Maria de la Paz Celorio Mancera, Gauri Mahadik, Calle Mattson, Karin Tahvanainen. Vi riktar ett särskilt tack till alla kustfiskare som bidragit med fiskeinsatser och prover.

7. Referenser

Andersson L, Ryman N, Rosenberg R, Ståhl G. 1981. Genetic variability in Atlantic herring (*Clupea harengus harengus*): description of protein loci and population data. *Hereditas* 95:69-78.

Buchholz RH, Tomkiewicz J, Dalskov J. 2008. Manual to determine gonadal maturity of herring (*Clupea harengus* L.). DTU Aqua-report 197-08. Charlottenlund, National Institute of Aquatic Resources.

Dickey-Collas M, Nash RDM, Brunel T, van Damme CJG, Marshall CT, Payne MR, et al. 2010. Lessons learned from stock collapse and recovery of North Sea herring: a review. *ICES J Mar Sci* 67: 1875-1886.

Gautier M. 2021. Package "poolfstat". Computing f-statistics and building admixture graphs based on allele count of pool-seq read count data.

Han F, Jemsandekar M, Pettersson M, Su L, Fuentes-Pardo AP, Davis BW, Bekkevold D,

Berg F, Casini M, Dahle G, Farrell ED, Folkvord A, Andersson L. 2020. Ecological adaptation in Atlantic herring is associated with large shifts in allele frequencies at hundreds of loci. *eLife* 2020;9:e61076 DOI: [10.7554/eLife.61076](https://doi.org/10.7554/eLife.61076)

Hill J, Enbody ED, Pettersson ME, Sprehn CG, Bekkevold D, Folkvord A, Laikre L, Kleinau G, Scheerer P, Andersson L. 2019. Recurrent convergent evolution at amino acid residue 261 in fish rhodopsin. *PNAS* 116: 18473-18478.

í Kongsstovu S, Mikalsen S-O, í Homrum E, Jacobsen JA, Als TD, Gislason H, Flicek P, Nielsen EE, Dahl HA. 2022. Atlantic herring (*Clupea harengus*) population structure in the Northeast Atlantic Ocean. *Fisheries Research* 249:106231.

Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547-1549. DOI: [10.1093/molbev/msy096](https://doi.org/10.1093/molbev/msy096)

Lamichhaney S, Martinez Barrio A, Rafati N, Sundström G, Rubin C-J, Gilbert ER, Berglund J, Wetterbom A, Laikre L, Webster M, Grabherr M, Ryman N, Andersson L. 2012. Population-scale sequencing reveals genetic differentiation due to local adaptation in Atlantic herring. *PNAS* 109:19345-19350.

Martinez Barrio A, Lamichhaney S, Fan G, Rafati N, Pettersson M, Zhang H, Dainat J, Ekman D, Höppner M, et al. 2016. The genetic basis for ecological adaptation of the Atlantic herring revealed by genome sequencing. *eLife*: doi.org/10.7554/eLife.12081.001

Nei M, Tajima F, Tateno Y. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *Journal of Molecular Evolution* 19:153-170. DOI: [10.1007/BF02300753](https://doi.org/10.1007/BF02300753)

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

Ryman N. 2006. CHIFISH: a computer program testing for genetic heterogeneity at multiple loci using chi-square and Fisher's exact test. *Molecular Ecology Notes* 6:285-287. doi: [10.1111/j.1471-8286.2005.01146.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01146.x)

Ryman N, Lagercrantz U, Andersson L, Chakraborty R, Rosenberg R. 1984. Lack of correspondence between genetic and morphologic variability patterns in Atlantic herring (*Clupea harengus*). *Heredity* 53:687-704.

Ryman N, Palm S, André C, Carvalho R, Dahlgren TG, Jorde PE, Laikre L, Larsson LC, Palmé A, Ruzzante DE. 2006. Power for detecting genetic divergence: differences between statistical methods and marker loci. *Molecular Ecology* 15:2031-2045. doi: [10.1111/j.1365-294X.2006.02839.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.02839.x)

Takezaki N, Nei M, Tamura K. 2009. POPTREE2: software for constructing population trees from allele frequency data and computing other population statistics with windows interface. *Molecular Biology and Evolution* 27:747-752. DOI: [10.1093/molbev/msp312](https://doi.org/10.1093/molbev/msp312)