

**RAPPORT 2013/6**

**FISKUNDERSÖKNINGAR  
I FYRISÅN 2012**

Tomas Loreth, Upplandsstiftelsen  
Johan Persson, Upplandsstiftelsen  
Gustav Johansson, Hydrophyta Ekologikonsult  
Anders Larsson, Fyrisåns vattenförbund  
Niclas Gyllenstrand, Sveriges lantbruksuniversitet



#### **FÖRFATTARE**

Tomas Loreth, Upplandsstiftelsen

Johan Persson, Upplandsstiftelsen

Gustav Johansson, Hydrophyta Ekologikonsult

Anders Larsson, Fyrisåns vattenförbund

Niclas Gyllenstrand, Sveriges lantbruksuniversitet

#### **FOTO**

Omslagsbild: Montering av fiskräknare

Foto: Malin Hjelm

Övriga foton: Författarna om inget annat anges

#### **PRODUKTION OCH LAYOUT**

Upplandsstiftelsen

#### **KONTAKT UPPLANDSSTIFTELSEN**

Telefon 018-611 62 71

Hemsida [www.upplandsstiftelsen.se](http://www.upplandsstiftelsen.se)

© Upplandsstiftelsen 2013

## **FÖRORD**

Fyrisån är en mälarmynnande slättlandså som mynnar i Ekoln strax söder om Uppsala. I centrala Uppsala har fria vandringsvägar för fisk skapats genom att bygga en fisktrappa vid Islandsfallet och ett omlöp runt Kvarnfallet kring Upplandsmuséet. Därmed kan fisk och andra vattenlevande organismer ta sig från Mälaren upp till Ulva kvarn i Fyrisån och även en bit upp i biflödet Jumkilsån.

Upplandsstiftelsen har sedan 2005 undersökt effekterna av fria vandringsvägar i Fyrisån genom att studera förekomsten av fisk. I denna rapport sammanfattas resultaten från 2012 års verksamhet som innefattar romeftersök, DNA-analys samt elfisken.

Arbetet har finansierats till hälften av Upplandsstiftelsen, Fyrisåns vattenförbund och Uppsala Vatten och Avfall. Den andra hälften av insatserna har finansierats av statliga fiskevårdsmedel.

Björn-Gunnar Lagström  
Naturvårdschef

Johan Persson  
Projektledare

## INLEDNING

Syftet med denna rapport är att samla fiskinventeringarna som gjorts i Fyrisån under 2012 i en gemensam publikation. Undersökningarna är en del i arbetet med att skapa och utvärdera effekterna av fria vandringsvägar i systemet.

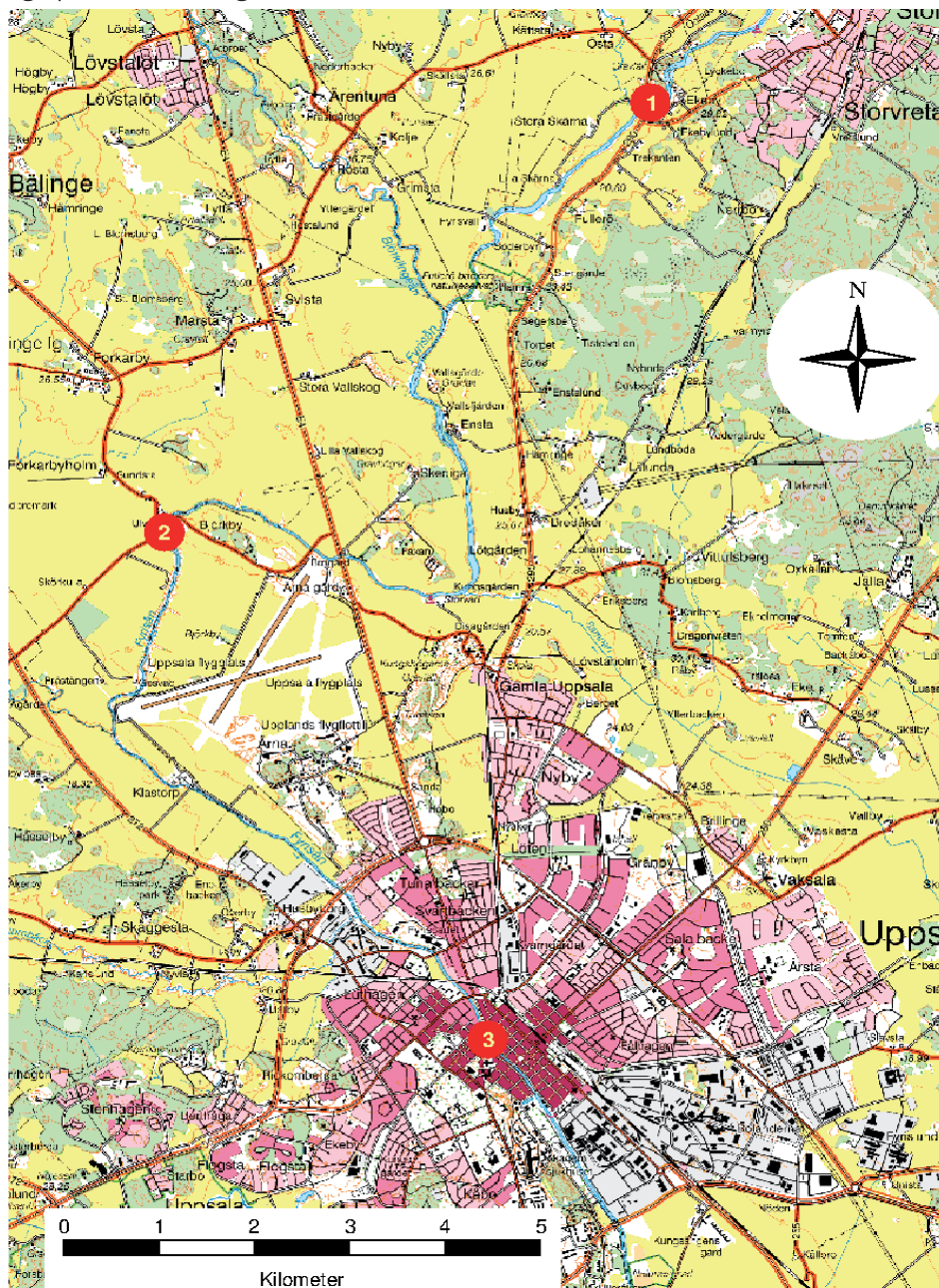
I april 2008 öppnades fisktrappan vid Islandsfallet i centrala Uppsala. För aspen i Fyrisån innebär det att den, efter att i princip varit helt utestängd sedan 1841 då Islandsfallet konstruerades, nu kan vandra fritt från Mälaren upp till den potentiella leklokalen nedströms Kvarnfallet och vidare till Ulva kvarn samt upp i biflödet Jumkilsån till första vandringshindret vid Nyåkers kvarn. Fiskvägen förbi Kvarnfallet öppnades redan 2007. Långtgångna planer finns på att bygga en fiskvandringssväg förbi Ulva kvarn och nästa definitiva, uppströms belägna vandringshinder finns vid Ekeby kvarn söder om Storvreta samt Rostadammen i Björklingeån. Upplandsstiftelsen har, med finansiellt stöd från Fiskeriverket, Fyrisåns vattenförbund och Uppsala Vatten och Avfall, sedan 2005 undersökt effekterna av fria vandringsvägar i Fyrisån genom att studera förekomsten av fisk. Detta skedde från början genom elfiske i centrala Uppsala och nedströms dämnet vid Ulva kvarn, men provtagningen har sedan 2009 utökats med att även inkludera eftersök av rom och notdragning efter yngel. Med undantag av 2007 har lokalerna vid Ulva kvarn och Kvarnfallet elfiskats årligen.

Insatserna under 2012, som till hälften finansieras av statliga fiskevårdsmedel, har inbegripit romeftersök mellan Kvarnfallet och Dombron under våren, DNA-analys av funnen rom samt elfiske under förhösten vid Ekeby kvarn och i omlöpet vid Rosénparken.

Vid fältarbetena har förutom författarna även Per Stolpe och Alexander Masalin, båda Upplandsstiftelsen, deltagit.

## PROVTAGNINGSLOKALER

Provtagning har skett på två platser under 2012, nämligen vid Ekeby kvarn nedströms Storvreta och i Rosénparken i centrala Uppsala (Figur 1). Arbetet med att öppna fri passage vid Ulva kvarn pågår. På grund av höga flöden under sensommaren kunde flera av de tilltänkta lokalerna, Ulva kvarn och nedströms Kvarnfallet, inte inventeras under 2012. En översikt över provtagningslokalernas läge presenteras i Figur 1.



**Figur 1.** De områden längs Fyrisån som besökts för provtagning är markerade med röda punkter. 1 Ekeby kvarn med lokalen nedströms dämnet, 2 Ulva kvarn (endast romefftersök) och 3 omlöpet genom Rosénparken.

## METODER

För samtliga lokalangivelser nedan hänvisas till Figur 1.

## ROMEFTERSÖK

Flera av de cyprinidarter som förekommer i Fyrisån har vidhäftande romkorn som ofta läggs i relativt kraftigt strömmande vatten. Genom att plocka upp sten, grenar och näckmossa från strömsträckor under lektid kan man ta prover på rommen för vidare DNA-analys. Berglund (2008) beskriver metoden utförligt. Sammanfattningsvis ska varje romkorn, efter mätning och fotografering under lupp, läggas i 96 % odenaturerad etanol i avvaktan på DNA-analys. Storleken på romkornen kan ge en första signal om vilken art det kan röra sig om och t.ex. löjans rom skiljer sig från övriga aktuella cyprinider genom att vara klart mindre. Aspens romkorn får en diameter på mellan ca 2,2 och 2,6 mm efter vidhäftning. Uppgifter i litteraturen är vanligen lägre men beror på att man mätt rom direkt från romsäckarna. Sökning gjordes längs den östra stranden under och på båda sidorna av Dombron 27 april 2012. Ett eftersök på den lämpliga leklokalen vid Ulva kvarn gjordes 4 maj 2012.

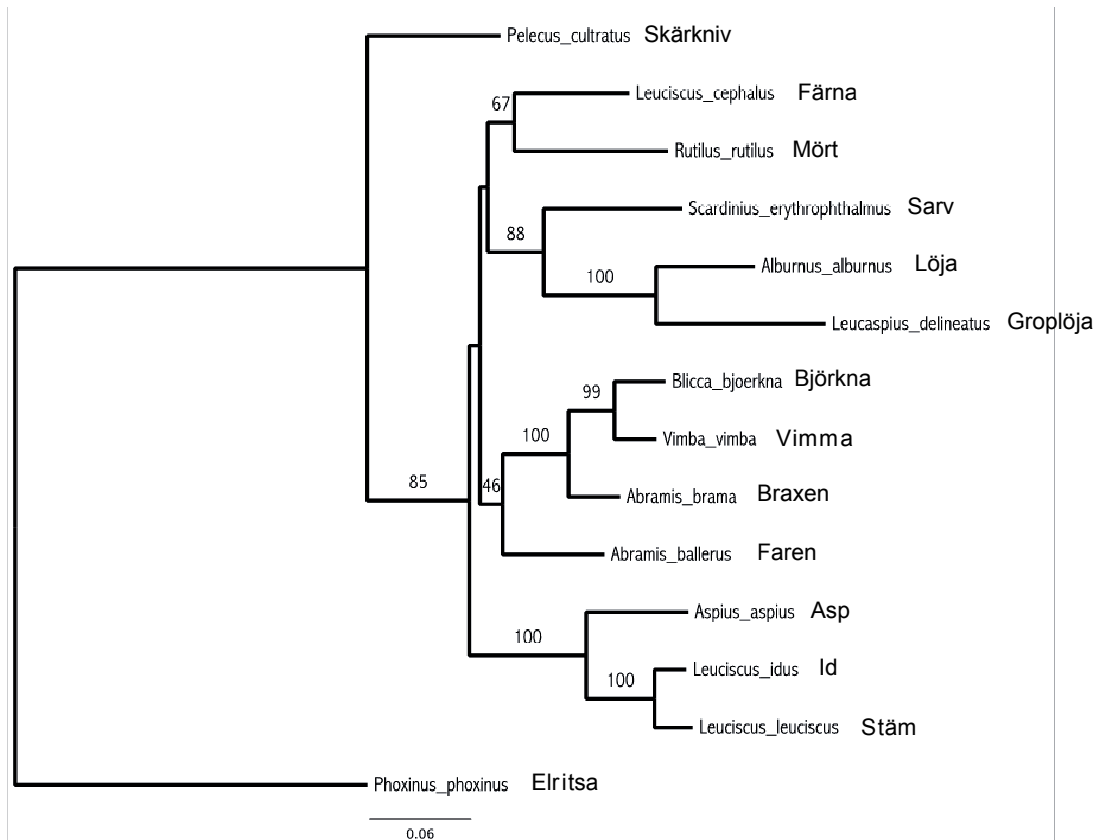
## DNA-ANALYS

Den gen som analyserats kodar för cytokrom b, ett enzym som ingår i andningskedjan. Denna gen sitter i mitokondrie-DNA och förekommer därför i flera hundra kopior per cell vilket gör det enklare att analysera jämfört med kärn-DNA där endast en kopia finns. Dessutom finns det relativt gott om studier på denna gen, som är 1040 baspar lång, vilket gör att det möjligt att jämföra med publicerade sekvenser från tidigare studier. Figur 2 visar exempel på sekvenser för en del av cytokrom b hos svenska cyprinidarter, utom sutare och ruda, och släktskapet mellan dessa,



**Figur 2.** Exempel på sekvenser för början av genen cytokrom b från flera svenska cyprinidarter. DNA-kedjans olika baser anges med A, C, G och T. Området inom den svarta rektangeln visar en kort sekvens där fem arter skiljer sig åt.

baserat på cytokrom b-genen, visas i Figur 3. En utförlig beskrivning av bakgrunden och tillvägagångssättet för DNA-analysen ges i Bilaga 1. Rom insamlad vid Dombrom 2009 och 2012 (10 korn från varje år) analyserades.



**Figur 3.** Fylogenetiskt träd baserat på genen cytokrom b som visar hur nära olika svenska cyprinidarter står varandra.

## ELFISKE

Elfisket utfördes enligt Bergquist m.fl. (2010). Provfiskena i omlöpet i Rosénparken och vid Ekeby var kvantitativa, vilket innebär tre utfiskningar per lokal. Kvantitativa fisken lämpar sig bäst när man vill uppskatta populationstätheter och följa förändringar över tiden. För fisket användes ett LUGAB L600 elfiskeaggregat. Spänningen var 200 V. Elprovfiskena utfördes vid Ekeby 27 augusti och i Rosénparken den 28 augusti 2012.

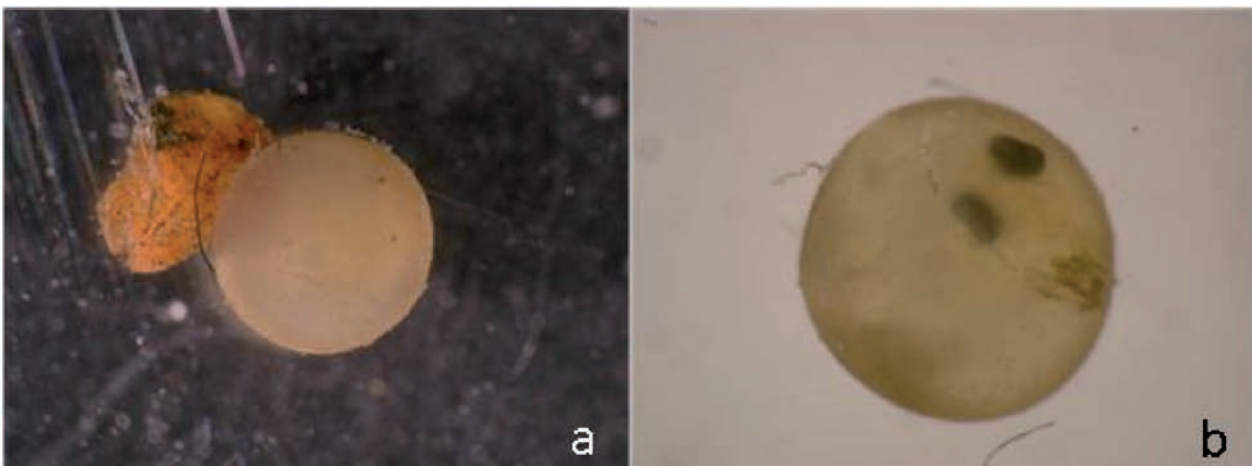
## FISKRÄKNAREN VID ISLANDSFALLET

Fiskräknaren vid Islandsfallet registrerar fisk över 20 cm storlek med hjälp av infrarött ljus vid passage genom öppningen i övre delen av konstruktionen. Ett datorprogram som tar hänsyn till fiskens fart genom räknaren kan sedan åter skapa konturen av fisken och i många fall är denna bild tillräcklig för att man ska kunna göra en artbestämning. Motströmspassager betyder fisk som gått upp för trappan och dessa har räknats och om möjligt artbestämts.

## RESULTAT OCH DISKUSSION

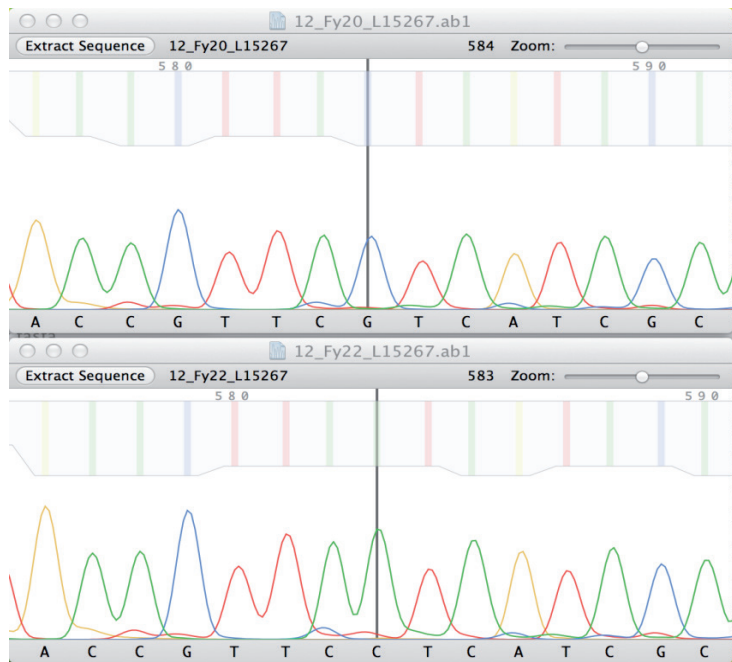
### ROMEFTERSÖK OCH DNA-ANALYS

Totalt insamlades ca 30 romkorn med en diameter mellan 2,2 och 2,4 mm vid Dombbron. Rommen påträffades huvudsakligen som enstaka korn fästa vid grenar, sten och näckmossa samt på diverse skrot. Ingen rom påträffades vid Ulva kvarn. Alla 20 romkorn som analyserades (10 från 2009 och 10 från 2012) visade sig vara från asp. Rommen som var från 2012 var enklare att analysera vilket visar att det är bättre att använda relativt färsk rom. Det var också lättare att analysera rom som man odlat under några dagar i rumstemperatur och luftbubbling (Figur 4), sannolikt eftersom dessa innehåller avsevärt fler celler än nybefruktad rom vilket ger mer DNA. På detta sätt kan man också enklare välja ut befruktade och levande romkorn som det kommer att gå lätt att extrahera DNA från. Eftersom varje romkorn innebär en ganska stor kostnad är det bäst att se till att de också ger resultat.



**Figur 4a.** Romkorn av asp direkt efter insamling, sannolikt någon till några dagar gammalt, och b. ögonpunktad asprom som legat i luftbubblat Fyrisåvatten i rumstemperatur under tre dygn efter insamling. Sådana korn gav bäst resultat i den genetiska analysen.





**Figur 5.** Exempel på variation inom arten asp i romkorn från Fyrisån. Kurvornas färg anger vilken bas som sitter på en given position i genen. På positionen vid strecket har det övre romkornet ett G medan det nedre har ett C. I övrigt är de lika. Dessa två romkorn har alltså lagts av två olika honor.

Det är i viss mån möjligt att hitta variation även inom arten med genen för cytokrom b. Ett exempel på detta ges i Figur 5. Man kan på så vis skaffa sig en uppfattning av t.ex. populationsstorleken och hitta unika drag hos skilda populationer. Eventuellt är det dock bättre att använda sig av andra delar av genomet för att t.ex. undersöka homing-beteende och liknande frågeställningar. Grundläggande för att utföra sådana studier är dock att rominsamlingen sker helt slumpmässigt vilket i praktiken är omöjligt. Inom detta område återstår en hel del att göra.

## ELFISKE

### EKEBY KVARN

Årets fiske, som var det tredje på denna plats, resulterade liksom tidigare år i en dominans av stensimpa (Tabell 1). Det fångades dock betydligt färre fiskar under 2012 jämfört med 2010 och 2011. En trolig förklaring till minskad fångst är att det vid inventeringstillfället rådde höga flöden vilket fått fisken att flytta på sig till områden som kan erbjuda bättre ståndplatser än den vid Ekeby kvarn som är kraftigt rensad. Totalt fångades fem fiskarter på de tre utfiskningar som genomfördes. Sträckan nedströms Ekeby kvarn saknar större sten och avsaknaden av död ved är påtaglig. Biotopvård är nödvändig för att återskapa en mer varierad biotop, vilket inte enbart skulle gynna aspen vid ett öppnade förbi Ulva kvarn utan även det akvatiska livet i stort.

**Tabell 1.** Total fångst (antal individer) vid elprovfiske nedströms Ekeby kvarn 27 augusti 2012 samt 2011 och 2010. Notera att det endast var en utfiskning 2010, två under 2011 och tre under 2012.

<b>ART</b>	<b>2010</b>	<b>2011</b>	<b>2012</b>
Abborre	3	2	<b>0</b>
Gädda	5	2	<b>2</b>
Id	0	1	<b>0</b>
Lake	22	5	<b>5</b>
Mört	2	5	<b>1</b>
Signalkräfta	12	0	<b>2</b>
Stensimpa	164	47	<b>27</b>

#### ULVA KVARN

Inget elprovfiske kunde genomföras på grund av höga flöden.

#### CENTRALA UPPSALA, UPPSTRÖMS DOMBRON

Inget elprovfiske kunde genomföras på grund av höga flöden.

#### CENTRALA UPPSALA, OMLÖPET GENOM ROSÉNPARKEN

Detta var fjärde året i rad som omlöpet i Rosénparken elfiskades. År 2009 fångades fem fiskarter, 2010 fångades hela tio arter, 2011 fångades sex arter samt en signalkräfta och 2012 fångades endast tre arter. (Tabell 2). Mörtfångsten dominerade stort under alla undersökta år. Sett över åren så har artrikedomen och mängden fisk som fångats varit imponerande med tanke på den lilla yta det rör sig om samt att biotopen skapades så sent som 2008. Det låga antalet arter och individer under 2012 års inventering beror med stor sannolikhet på att det rådde höga flöden under perioden vilket även påverkade den mot högvatten skyddade sträckan vid Rosénparken.

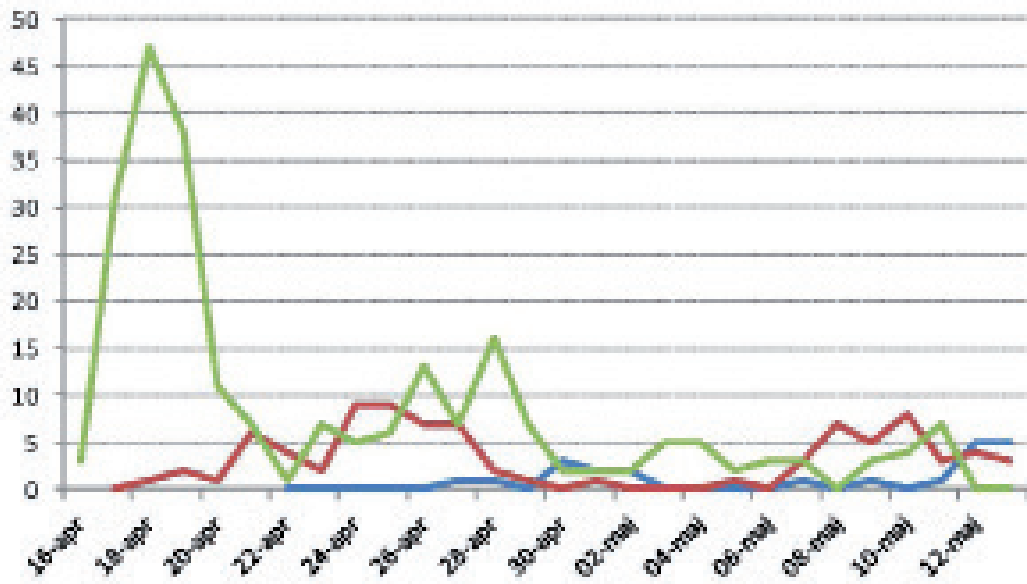
**Tabell 2.** Total fångst (antal individer) vid elprovfiske i omlöpet genom Rosénparken 28 augusti 2012 samt fångsterna under perioden 2009–2011.

<b>ART</b>	<b>2009</b>	<b>2010</b>	<b>2011</b>	<b>2012</b>
Abborre	2	4	6	<b>2</b>
Benlöja	1	4	9	<b>0</b>
Gers	0	3	2	<b>0</b>
Gädda	0	1	0	<b>2</b>
Id	0	1	0	<b>0</b>
Lake	0	1	1	<b>0</b>
Mört	84	33	115	<b>13</b>
Nejonöga	0	0	1	<b>0</b>
Signalkräfta	0	0	1	<b>0</b>
Småspigg	0	1	0	<b>0</b>
Sutare	1	2	0	<b>0</b>
Ål	0	2	0	<b>0</b>

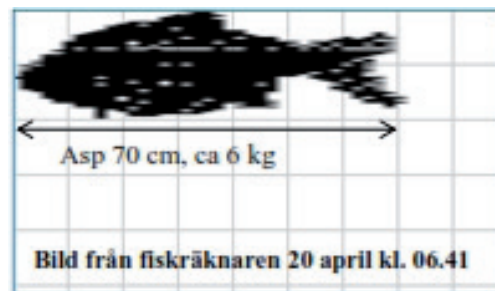
### **FISKRÄKNAREN VID ISLANDSFALLET**

I fiskräknaren vid Islandsfallet noterades 237 uppåtvandrande fiskar över 20 cm under perioden 16 april till 13 maj 2012 (Figur 6). Hur många av dessa som var aspar är svårt att avgöra eftersom det är svårt att särskilja mindre aspar från större idar enbart med hjälp av kroppens form. Klart är att fiskar med tydliga karaktärsdrag av karpfisk över 50 cm högst troligt är asp då id, som ligger närmast i kroppsform bland karpfiskarna, sällan blir större än så.

Under en period av tre dagar, 17 till 19 april, gick nära hälften av de 237 registrerade fiskarna upp genom fisktrappan. Många av dessa var stora fiskar över 50 cm och med tanke på att det inträffade strax innan aspen ska till att leka är sannolikheten stor att det rör sig om just asp. Läger man där till det faktum att den rom som samlats in nedan Kvarnfallet under 2012 med DNA-analys bestämdes till asprom kan vi vara helt säkra på att asp gått upp genom fisktrappan vid Islandsfallet. Exempel på silhuettbild från uppvandrande asp som passerat fiskräknaren ges i Figur 7.



Figur 6. Totalantalet fisk över 20 cm som passerat fiskräknaren vid Islandsfallet vid uppåtvandring under perioden 16 april till 14 maj under åren 2010 (blå linje), 2011 (röd linje) och 2012 (grön linje).



Figur 7. Exempel på silhuettbild från fiskräknaren vid Islandsfallet.

## SLUTSATSER

Det är oerhört glädjande att konstatera att fisktrappan vid Islandsfallet fungerar på ett tillfredställande sätt. Fisk har redan från 2008 kunnat passera, men aldrig tidigare har en sådan intensiv vandring av aspar vid tiden strax innan lekperioden kunnat konstateras som under våren 2012. Av de drygt hundra fiskar som registrerades i fiskräknaren under några få dagar i april var flertalet aspar som med största sannolikhet steg upp för att leka. Fynden av rom nedan Kvarnfallet, som med hjälp av DNA-analys konstaterats komma från asp, styrker detta.

Genom årliga provfisken finns nu fleråriga dataserier från tiden både före och efter öppnandet av fiskvandring svägarna i centrala Uppsala. Dataserierna är mycket viktiga att följa upp ur både ett lokalt och ett nationellt perspektiv eftersom uppföljningar av liknande projekt är ovanliga i Sverige. Det planerade anläggandet av en fiskvandring sväg förbi Ulva kvarn är mycket positivt och öppnar för asplek på lekområdena vid Ekeby nära Storvreta. Vid Ekeby finns det närmast uppströms belägna vandringshindret. För att det i framtiden ska gå att beskåda asplek vid Ekeby bör biotopvård i form av tillförsel av grövre stenar och block samt grävning av gropar utföras eftersom sträckan är kraftigt rensad.

Fortsatta uppföljningar av fiskförekomsten blir mycket viktiga även under de kommande åren, särskilt med tanke på att det finns tankar på att biotopförbättrande åtgärder i centrala Uppsala och att planering av en fiskvandring sväg förbi Ulva pågår.

## TACKORD

Tack till Per Stolpe och Alexander Masalin, Upplandsstiftelsen, för väl utfört fältarbete.

## REFERENSER

- Berglund J* (2008) Utveckling av metod för inventering av leklokaler för asp – metodbeskrivning och metodhandledning. Länsstyrelsen i Uppsala län, Meddelande 2008:13. 28 sid.
- Bergquist B, Degerman E och Sers B* (2010) Elfiske i rinnande vatten. Naturvårdsverket, Version 1:5 2010-05-05, 15 sid.

## Genetisk artbestämning av asprom

### Bakgrund

Som genetisk markör för artbestämning av asprom har en gen från mitokondrie-genomet valts. Det finns flera anledningar till att välja en sådan markör. Det finns jämförelsematerial från andra arter i form av DNA-sekvenser i publika databaser. Mitokondrie-genomet finns i många kopior i varje cell och eftersom DNA-materialet i ett fiskägg är begränsat lämpar sig mitokondrie-DNA bättre än kärn-DNA som bara finns i en kopia per cell medan mitokondrie-DNA finns i 100-1000 kopior per cell. Slutligen finns det väl karakteriserade gener med en lämplig mängd genetisk variation, för mycket eller för lite genetisk variation gör att en artbestämning inte är möjlig. Den gen som har använts heter cytokrom b och består av 1040 nukleotider. Cytokrom b är ett protein som ingår i andningskedjan vid elektrontransport och är även inblandad i bildandet av energikällan ATP. För molekylära släktskapsstudier av karp-fiskar (och andra djur) har cytokrom b använts tidigare (Briolay *et al.* 1998; Zardoya & Doadrio 1999; Durand *et al.* 2002). Vid artbestämning läser man av de nukleotider (A, C, G och T) som DNA-strängen som kodar för cytokrom b består av. Avläsning och bestämning av sekvensen av nukleotider kallas sekvensering. Olika arter skiljer sig något åt vad gäller sekvensen av nukleotider. Genom att jämföra de positioner i DNA-sekvenser som varierar mellan arter kan man sålunda bestämma ursprunget till ett DNA-prov. Till viss del kan man också få information om genetisk variation inom en population. En stor population har mer genetisk variation än en liten population. En del av den genetiska variationen är unik för en art och kan användas för att få information om inomartsvariation.

### Molekylära metoder

För att förhindra nedbrytning av DNA måste material som ska undersökas bevaras i minst 70% alkohol alternativt frysas ned. Korrekt hanterat material kan sparas i flera år innan analys.

DNA har isolerats med ett kommersiellt kit (Qiagen DNeasy). Efter att DNA extraherats har kvalitén utvärderats genom att köra proven i en agaros-gel. DNA av hög kvalitet visar sig som ett band. Nedbrutet DNA är utsmetat. Kvantiteten har mätts med Nanodrop spektrofotometer.

För varje prov har genen cytokrom b amplifierats med PCR (polymerase chain reaction) och specifika primers (startsekvenser). I PCR-reaktionen kopieras en specifik bit DNA. Den specifika delen bestäms av primers. Resultatet av PCR-reaktionen är miljontals kopior av en specifik del av genomet i det här fallet genen cytokrom b.

Innan sekvensering av DNA har proverna renats för att bli av med salter och överskott av primers. Sekvensering har utförts av Macrogen Inc. i Syd-Korea. Resultatet av sekvensering levereras som en fil med ett så kallat kromatogram. Ett kromatogram kan ses som fyra färgkodade vågformade linjer. De fyra färgerna motsvarar de fyra nukleotiderna A, C, G och T. De fyra vågformade linjerna bildar en serie toppar där varje topp motsvarar en viss nukleotid. Som exempel kan ges om röd linje motsvarar nukleotiden T så kommer varje röd topp att innebära ett T i sekvensen osv.

### Analys

Alla kromatogram tolkas automatiskt till en nukleotidsekvens. Kromatogramen undersöks också manuellt för att upptäcka eventuella feltolkningar. Som jämförelsematerial hämtas cytokrom b DNA-sekvenser för cyprinid-fiskar från Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Urvalet är begränsat till naturligt förekommande cyprinid-fiskar i svenska vatten (tabell 1).

För ytterligare säkerställa artbestämningen används sökverktyget BLAST. Med BLAST jämförs sekvenser från de analyserade äggen med alla sekvenser från cyprinid-fiskar i Genbanks databas. Totalt innehåller databasen 2 336 369 nukleotid sekvenser för cyprinidae (2012-11-13). I de fall sökningen inte ger någon träff i databasen med restriktionen "cyprinidae" utökas sökningen till att inbegripa samtliga fiskar (Klass: Benfiskar (Osteichthyes)).

### Slutsatser

Metoden är relativt enkel och snabb. Möjligheten att korrekt artbestämma ett prov är nära 100 procentig. Hittills har alla ägg som analyserats kunnat artbestämmas. De fall när artbestämning inte kan tänkas lyckas är om DNA är alltför degraderat. Det ska också noteras att den genetiska informationen för Asp i tillgängliga databaser är begränsad. För närvarande finns det endast 36 DNA-sekvenser som rör Asp i

Genbank. Det finns heller inga populationsgenetiska undersökningar publicerade om Asp. Här finns en stor kunskapslucka. Hur mycket genetisk variation finns? Är de svenska populationerna genetiskt differentierade? Har de svenska populationerna genetiskt divergerat från europeiska populationer?

#### Referenser

- Briolay J., Galtier N., Brito R.M., Bouvet Y. (1998) Molecular phylogeny of Cyprinidae inferred from cytochrome b DNA sequences. *Molecular phylogenetics and evolution* **9**:100–108.
- Durand J., Tsigenopoulos C., Unlu E., Berrebi P. (2002) Phylogeny and biogeography of the family Cyprinidae in the Middle East inferred from cytochrome b DNA - Evolutionary significance of this region. *Molecular phylogenetics and evolution* **22**:91–100.
- Zardoya R., Doadrio I. (1999) Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of European cyprinids. *Journal of molecular evolution* **49**:227–237.

Tabell 1 Artlista som använts som jämförelsematerial.

Art	Artnamn
Asp	<i>Aspius aspius</i>
Id	<i>Leuciscus idus</i>
Stäm	<i>Leuciscus leuciscus</i>
Groplöja	<i>Leucaspius delineates</i>
Löja	<i>Alburnus alburnus</i>
Sarv	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>
Faren	<i>Abramis ballerus</i>
Braxen	<i>Abramis brama</i>
Vimma	<i>Vimba vimba</i>
Björkna	<i>Abramis bjoerkna</i>
Mört	<i>Rutilus rutilus</i>
Färna	<i>Leuciscus cephalus</i>
Elritsa	<i>Phoxinus phoxinus</i>
Sutare	<i>Tinca tinca</i>
Ruda	<i>Carassius carassius</i>
Skärkniv	<i>Pelcus cultratus</i>

I denna rapport är fiskinventeringarna som genomförts i Fyrisån under 2012 samlade i en gemensam publikation.

Undersökningarna är en del i arbetet med att skapa och utvärdera effekterna av fria vandringsvägar i systemet.