

Temporale forskjeller i reproduksjonsutvikling hos to morfer av røye (*Salvelinus alpinus*)

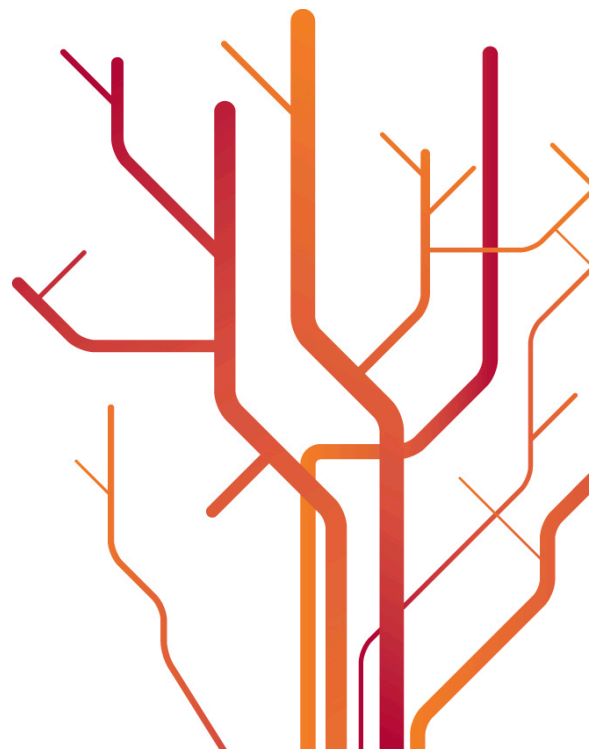
En studie av litoral og profundal røye i Skogsfjordvatn, Troms.



Hans Ivar Hestdahl

Mastergradsoppgave i fiskeri- og havbruksvitenskap
Studieretning - Oppdrettsbiologi (60 stp)

Mai 2013



FORORD

Så er tiden kommet for å runde av 5 år med studier ved Universitetet i Tromsø og Norges Fiskerihøgskole. Tiden har flydd avgårde disse årene, fra den spede begynnelse hvor vi lærte om Platon og Descartes eskapader, til å nå skrive forord på avsluttende mastergradsoppgave. De som nå fortjener en takk, er de som har bidratt til et positivt og minnerikt studieopphold samt de som har bidratt til denne oppgaven.

Først og fremst må jeg få takke professor Helge K. Johnsen for god veiledning gjennom hele prosessen og for alltid å ta seg tid til hva det enn måtte være.

En stor takk går til overingeniør Tanja L. Hanebrekke for meget god og grundig opplæring i steroidanalyser.

Jeg vil også takke samarbeidspartnerne i ferskvannsgruppa. Takk til professor og tilrettelegger Rune Knudsen for god hjelp og godt humør under feltarbeidet. Takk til Laina Dalsbø og Aslak Smalås for hjelp til sampling i Skogsfjordvatn, uansett vær (eller lys) –forhold. Takk til Sigrid Skoglund for utrolige illustrasjoner av røye.

Vil takke alle på kull 2008 som har vært med på ferden. Det har vært et privilegium å studere med en så fin gjeng og jeg setter stor pris på dere.

Vil til slutt takke min samboer Sandra for disse årene.

Tromsø, 15. Mai 2013

Hans Ivar Hestdahl

SAMMENDRAG

Sympatriske morfer av litoral- og profundal røye (*Salvelinus alpinus*) fra Skogsfjordvatn, Troms (70°N) ble undersøkt for å finne temporale forskjeller i reproduksjonsutviklingen.

Feltarbeidet pågikk høsten 2011 hvor fisken ble samlet for blod og gonadeprodukter hver måned fra august til og med desember. Blodplasma ble analysert for steroide kjønnshormoner (Estradiol-17 β (E₂) og 11-ketotestosteron (11-KT)) ved hjelp av radioimmunoassay (RIA). Det ble i tillegg utført målinger av oocyttdiameter og beregning av gonadosomatisk indeks ($\frac{GW}{FW} \times 100$) hos hunfisk.

Undersøkelsene viste at litoralrøye gjennomgikk vitellogenese i august-september. Samtlige undersøkte individer fra litoralpopulasjonen var utgytt før 10. oktober. Hovedtyngden av profundalrøye så ut til å gjennomgå vitellogenese fra oktober til desember. Individer samlet i desember var ikke utgytt, men hadde steroidverdier som indikerte at ovulering ville funnet sted innen de nærmeste dagene. Det ble også observert kjønnsmodne profundalfisk i november. Profundal røye så ut til å forskyve den reproduktive utviklingen med rundt 2 måneder.

Miljøsignal som fotoperiode og temperatur er trolig ikke årsaken til forskjellen i gytetidspunkt mellom morfene. Forskjellen er trolig genetisk betinget og sannsynligvis drevet av en endogen komponent. Hvorvidt morfene er reproduktivt isolert er fremdeles usikkert. Det ble imidlertid ikke funnet tegn på overlapping av gytesesong. Sen gyting hos profundalrøye kan trolig kompenseres for ved at eggene inkuberes ved en høyere temperatur sammenlignet med litorale røye. Dette kan være med på å sikre at klekkingen korresponderer med næringsoppblomstringen om våren og dermed sikrer overlevelse hos avkommet.

INNHALDSFORTEGNELSE

1.0 INNLEDNING	1
1.1 UTBREDELSE OG BIOLOGI.....	1
1.2 REPRODUKSJONSBIOLOGI.....	1
1.2.1 OOCYTTUTVIKLING.....	2
1.2.2 SPERMATOGENESE.....	4
1.2.3 ENDOKRIN REGULERING AV REPRODUKSJON.....	4
1.3 ØKOLOGISK ARTSDANNELSE.....	7
1.3.1 SYMPATRI OG POLYMORFISME HOS ARKTISK RØYE.....	8
1.3.2 SYMPATRISKE POPULASJONER I FJELLFRØSVATN, TROMS.....	9
1.4 BAKGRUNN OG MÅLSETTINGER.....	10
2.0 METODE	11
2.1 FORSØKSFISK.....	11
2.2 LOKALITET.....	11
2.3 INNSAMLING AV FISK.....	11
2.4 SAMPLINGSPROSEDYRE.....	13
2.5 IDENTIFISERING AV MORFER.....	13
2.6 GONADOSOMATISK INDEX OG OOCYTTMÅLING.....	14
2.7 KVANTIFISERING AV STEROIDE KJØNNSHORMONER.....	15
2.7.1 EKSTRAHERING AV STEROIDER.....	15
2.7.2 RADIOAKTIVE STEROIDER (TRACER).....	16
2.7.3 ANTISTOFFER.....	16
2.7.4 STANDARDKURVE.....	16
2.7.5 DEXTRAN COATED CHARCOAL SOLUTION (DCC).....	16
2.7.6 RADIOIMMUNOASSAY.....	17
2.8 STATISTIKK OG DATABEHANDLING.....	18
3.0 RESULTATER	19
3.1 E ₂ - PROFIL HOS LITORALE HUNNER.....	19
3.2 E ₂ - PROFIL HOS PROFUNDALE HUNNER.....	20
3.3 11KT-PROFIL HOS LITORALE HANNER.....	21
3.4 11KT-PROFIL HOS PROFUNDALE HANNER.....	22
3.5 OOCYTTTER.....	23
3.6 GONADOSOMATISK INDEKS.....	24
4.0 DISKUSJON	26
4.1 SAMMENLIGNING AV REPRODUKTIVT UTVIKLINGSMØNSTER.....	26
4.1.1 HANNER.....	26
4.1.2 HUNNER.....	27
4.2 MILJØMESSIGE ÅRSAKER TIL FORSKYVING.....	29
4.2.1 FOTOPERIODE.....	29
4.2.2 TEMPERATUR.....	30
4.2.3 EN RESSURSBETINGET ADAPTASJON?.....	30
4.3 ØKOLOGISK BETYDNING.....	31
4.3.1 REPRODUKTIV ISOLASJON I SKOGSFJORDVATN?.....	31
4.3.2 KONSEKVENSN AV EN SENERE REPRODUKSJONSUTVIKLING.....	32
4.3.3 FORVALTNING AV SYMPATRISKE POPULASJONER.....	34
5.0 KONKLUSJON	35
REFERANSER	36
VEDLEGG	42

1.0 INNLEDNING

1.1 UTBREDELSE OG BIOLOGI

Arktisk røye (*Salvelinus alpinus*) er en kuldetolerant stenotermal laksefisk tilpasset et arktisk klima med en sirkumpolar utbredelse på den nordlige halvkule (Johnson 1980; Jobling et al. 1995). Typiske habitat er elver og oligotrofe innsjøer med forringede fiskepopulasjoner (Klemetsen et al. 2003) preget av store sesongvariasjoner i fotoperiode og mattilgang (Strand et al. 2008). Av totalt 50.000 røyepopulasjoner er det estimert at ca. 30.000 befinner seg i Norge (Klemetsen et al. 2003). Arktisk røye har en særdeles høy økologisk plastisitet (Svenning & Gullestad 2002) og framstår som den eneste ferskvannsfisken i de fleste høyarktiske innsjøer (Svenning et al. 2007).

I de nordligste utbredelsesområdene kan det forekomme anadrom sjørøye så vel som stasjonær variant i samme vassdrag (Johnson 1980). Førstnevnte foretar årlige migrasjoner til sjøen om våren, hvorpå den gjennomgår en beiteperiode i kystnære områder på sommeren før den returnerer til ferskvann om høsten (Nordeng 1983). Sjøvannsoppholdet varer normalt 6-8 uker med kan være ned mot 5 uker (Rikardsen et al. 2000). Anadromi hos arktisk røye skiller seg fra den hos atlantisk laks (*Salmo salar*) ved at samtlige individer, inkludert juveniler, migrerer tilbake til ferskvann hvert år (Klemetsen et al. 2003). Etersom røye vanligvis gyter i innsjøer vil migrasjoner foretas i den samme innsjøen, ofte som ontogenetiske habitatskift. I likhet med brunørret (*Salmo trutta*) kan den også vandre innenfor elvesystemer (Klemetsen et al. 1989).

1.2 REPRODUKSJONS BIOLOGI

For fiskepopulasjoner ved høye breddegrader er reproduksjon en årlig hendelse hvor gonadeutvikling og kjønnsmodning medieres av en sesongbasert endogen syklus. Dette skjer i synergisme med miljøsignal som fotoperiode og temperatur (Scott 1979; Tveiten et al. 1996). Arktisk røye er en iteropar art, dvs. den kan gyte flere sesonger (Nordeng 1983). Normalt vil gytingen foregå i september-oktober (Klemetsen et al. 1997), men i laboratorieforsøk er moden røye registrert til og med 15. oktober (Frantzen et al. 1997). I tillegg til endogene rytmer og miljømessige forhold vil gonadeutviklingen hos laksefisk påvirkes av energetisk status og raten på tilegnelse av energi (Rowe et al. 1991). En modellering av livshistorievariasjon (Rikardsen et al. 2004) har vist at lave lipidnivå om høsten hos anadrom

røye er assosiert med forskyvning av kjønnsmodning med et år, mens stasjonær røye med høye lipidnivå samme periode blir kjønnsmoden påfølgende sommer.

Histologiske tegn på kjønnsmodning hos røye er observert i mars, 6-7 måneder før ovulering (Frantzen et al. 1997). Gytingen kan kreve opp mot 80 % av totale lipidlagre hos hunner. Overvintringen krever også energi og bidrar sannsynligvis til dreneringen. Dette resulterer i sterkt reduserte energinivå påfølgende vår og kan dermed hindre røya å gjennomføre to suksessive gytesesonger (Jørgensen et al. 1997). Det er imidlertid observert økning i østradiol-17 β (E₂) i perioden januar-mars etter en gytesesong, noe som er assosiert med rekruttering av nye oocytter til vitellogenese (Frantzen et al. 1997). Lignende fenomen er kjent fra regnbueørret (*Onchorhynchus mykiss*) (Sumpter et al. 1984) og kan tyde på at den fysiologiske avgjørelsen om å gjennomføre en ny reproduksjonssyklus skjer før energireservene som kreves er gjenopprettet hos iteropare laksefisk (Frantzen et al. 1997). Mye tyder på at atlantisk laks terminerer matinntak om våren når den besitter de nødvendige ressursene for å gyte (Kadri et al. 1995), men kan utsette gytingen ett år om målet ikke er nådd innen mars-mai (Rowe et al. 1991). Lignende mekanismer kan operere i anadrom arktisk røye hvor utilstrekkelig energiinntak under beitevandringen om sommeren kan føre til manglende kjønnsmodning (Dutil 1986). Hvorvidt en fysiologisk re-evaluering om å fullføre reproduksjonssyklusen hos arktisk røye finner sted, er ikke kjent, men det er rimelig å anta at dette skjer når energireservene er gjenopprettet i mai-juli (Tveiten et al. 1996; Frantzen et al. 1997).

Alder og vekt ved kjønnsmodning hos populasjoner av arktisk røye varierer i særdeles høy grad og vekten på kjønnsmoden fisk kan spenne fra 3 g til 12 kg eller mer (Klemetsen et al. 2003). Stasjonære individer tenderer å være mindre under kjønnsmodningen som inntreffer etter 2-6 år, anadrom fisk blir kjønnsmoden etter 4-8 år (Johnson 1980; Nordeng 1983).

1.2.1 OOCYTTUTVIKLING

De fleste teleoster, uavhengig av reprodutiv strategi, ser ut til å ha samme vekstmønster i oocytutviklingen. Denne kan deles inn i seks faser; oogenese, primær oocytvekst, kortikatl alveolestadium, vitellogenese, modning og ovulering (Brooks et al. 1997). I likhet med andre iteropare arter inneholder ovariene hos arktisk røye en blanding av oocytter i ulike previtellogene stadier samt et kull med oocytter som gjennomgår vitellogenese og modning i en gitt reproduksjonssyklus, dvs. gruppesynkron ovarieutvikling (Frantzen et al. 1997). Til sammenligning kjennetegnes semelpare arter, f. eks de fleste anadrome *Onchorhynchus spp.*

ved at alle oocytter er i samme utviklingsstadium, noe som reflekteres i deres livssyklus hvor de gyter én gang for så å dø (Nagahama 1983).

Utviklingen av gonadene starter med dannelse av primordiale germinalceller (PCG) som er forløperen til germinalcellene, dvs. spermatogonia hos hanner og oogonia hos hunner. PCG er udifferensierte mhp. kjønn på dette tidspunkt og vil migrere til regionen hvor gonadene dannes. Under påvirkning av hormoner og andre faktorer (f. eks. temperatur) differensieres PCG videre til spermatogonia eller oogonia (Devlin & Nagahama 2002).

I ovariene skjer det en mitotisk celledeling der oogonia transformeres til primære oocytter. Overgangen til primære oocytter markerer også starten på meiotisk reduksjonsdeling og initiering av primær vekstfase (Nagahama 1983). I den innledende vekstfasen vil nukleoler i periferen av oocyttens germinale vesikkel (kjerne) produsere store mengder ribosomalt RNA og mRNA som koder for proteiner nødvendig for oocyttens videre vekst, herunder vitelloginin-reseptorer og det plommemasseprosesserende enzymet cathepsin (Yaron & Sivan 2006). Granulosa-celler og theca-celler vil videre omslutte oocytten og danne ovariefollikkelen (Wallace & Selman 1990). Videre utover i den primære vekstfasen minker størrelsesforholdet mellom nukleus og cytoplasma mens oocyttens volum øker inntil den når en kritisk størrelse. Hittil er veksten ikke betinget av gonadotropiner fra hypofysen (Wallace & Selman 1981).

Ved avslutning av primær vekstfase begynner sekundær vekstfase, herunder vesikkelstadium etterfulgt av vitellogenese. Når vesikkelstadium eller kortikal alveolefase inntreffer er oocytten avhengig av gonadotropiner for videre vekst. Fasen kjennetegnes av tilstedeværelse av plommemassevesikler som inneholder glukoproteiner produsert i oocytten. Dette gir opphav til kortikale alveoler i periferen av cytoplasma (Wallace & Selman 1981; Wallace & Selman 1990).

Mesteparten av oocyttens vekst skyldes akkumulering av plommemasse fra dens forløper vitelloginin. Under vitellogenese blir leveren stimulert av østrogener til å syntetisere vitelloginin som sekreseres ut i sirkulasjonen og binder seg til spesifikke reseptorer på oocyttens overflate hvorpå det inkorporeres som plommemasse (Specker & Sullivan 1994; Yaron & Sivan 2006). Østrogener stimulerer også hepatisk syntese av eggskallproteiner (choriogenin) hvorpå chorion dannes rundt oocytten (Yaron & Sivan 2006). Fettsyrene i plommemassen virker inn på embryogenesen og inngår i dannelsen av embryoniske strukturer. Fra en aminosyre-pool vil også embryoet kunne tilføres energi under utviklingen (Wiegand 1996). Den vil i tillegg fungere som næringsgrunnlag for yngel (Johnson 1980) inntil ca. 50-60 dager

etter klekking, avhengig av temperatur (Wallace & Aasjord 1984). I salmonider vil individer med lave plommemasserereserver ha mindre sannsynlighet for overlevelse. Eggene er lenge uten parental omsorg, og overgangen til eksogent matinntak er en flaskehals med økt risiko for dødelighet (Klemetsen et al. 2003).

Meiotisk reduksjonsdeling opphører etter vitellogenese samtidig som oocytten klargjøres for sluttmodning. Dette innebærer ulike modningsprosesser i nukleus og cytoplasma som er nødvendig for befruktning og utvikling av embryo (Nagahama 1997). Etter modning vil ovariefollikkelen degenereres slik at modent ovum eksponeres, dvs. egget er klart til befruktning (Goetz et al. 1991; Yaron & Sivan 2006).

Røyeegg har vanligvis en størrelse på 4-5 mm (Jobling et al. 1995; Frantzen et al. 1997) og veier 50-60 mg (Gillet 1994). Tiden det tar fra befruktning til klekking kan variere mellom 350 og 500 døgngrader (Jobling et al. 1993). Salmonider produserer lipidrike egg med et høyt innhold av triacylglyserol (Cowey et al. 1985). Sannsynligvis er et høyere innhold av nøytrale lipider karakteristisk for egg med lang inkubasjonstid (Sargent et al. 1989).

1.2.2 SPERMATOGENESE

Når PCG differensieres til spermatogonia hos hanfisk igangsettes proliferasjon gjennom mitose i testis (Yaron & Sivan 2006). Under påvirkning av gonadotropiner vil Leydig-cellene produsere androgener som igjen aktiverer Sertoli-cellene. Spermatogonia befinner seg i cyster formet av Sertoli-cellene og vil ved aktivering stimuleres til å gjennomføre spermatogesen (Grier et al. 1980; Nagahama et al. 1994). Den endelige generasjonen av spermatogonia vil etter siste mitotiske deling oppstå som spermatocytter. Første meiotiske deling resulterer i formasjon av sekundære spermatocytter, hvorpå andre meiotiske deling produserer haploide spermatider. Disse vil ikke deles videre, men transformeres gjennom spermiogenese til flagellerte spermatozoer. Mot kjønnsmodning vil seminal pH øke under påvirkning fra MIH (maturation inducing hormone), noe som promoterer motilitet hos spermatozoene (Yaron & Sivan 2006).

1.2.3 ENDOKRIN REGULERING AV REPRODUKSJON

Vitellogenese hos hunner og spermatogenese hos hanner signaliserer begynnelsen på kjønnsmodning hos teleoster (Tyler & Sumpter 1996; Schulz & Miura 2002). Den endokrine reguleringen av reproduksjon skjer hierarkisk via Hypothalamus-Hypofyse-Gonade akselen

(HPG-aksen) (Peter & Yu 1997; Urano et al. 1999). Denne begynner med miljøsignal (f. eks. fotoperiode og temperatur) i synergi med andre parametere (f. eks. sosiale interaksjoner) som påvirker sanseorganene, hvorpå efferente signaler sendes til ulike hjernesenter som til slutt kulminerer i hypothalamus. Denne delen av hjernen kommuniserer med hypofysen hvor gonadotropiner (GTH) syntetiseres og skilles ut. Syntetiseringen reguleres av hovedsakelig av gonadotropin releasing hormone (GnRH) og dopamin (DA) fra hypothalamus som hhv. stimulerer eller inhiberer produksjon av gonadotropiner (Peter & Yu 1997; Yaron & Sivan 2006). To ulike GTH, folikkelstimulerende hormon (FSH/GTH-I) og luteiniserende hormon (LH/GTH-II) er identifisert som nøkkelhormoner i den endokrine reguleringen av gametogenesisen (Peter & Yu 1997; Weltzien et al. 2003). Disse virker indirekte på biosyntesen av steroide kjønnshormoner i gonadene som igjen regulerer ulike trinn i kjønnsmodningen. Plasma-nivå av FSH og LH gjenspeiler hvor fisken befinner seg i reproduksjonssyklusen; FSH øker gradvis utover i vitellogenese/spermatogenesisen og faller rett før gyting, mens nivået av LH er konstant lavt gjennom hele gametogenesisen og øker dramatisk i forbindelse med gyting (Nagahama 1994).

Kjønnsmodningen hos salmonider av hunkjønn er sterkt assosiert med temporale endringer i plasma-nivå av E_2 (Tveiten et al. 1998). Under vitellogenese stimuleres theca-cellene av FSH til å produsere testosteron (T) (fig. 1A). Sistnevnte diffunderer så inn i granulosa-cellene hvor det aromatiseres til E_2 . Dette skilles deretter ut i sirkulasjonen og stimulerer hepatisk syntese og sekresjon av vitellogenin. FSH kan også effektivisere inkorporering av plommemasse i oocytten. Plasmanivå av E_2 og vitellogenese har taktvis økning og er positivt korrelert gjennom reproduksjonssyklusen (Nagahama 1994; Yaron & Sivan 2006), hvor nivået er høyest når vitellogenese er mest aktiv for så å returnere til basalnivå før ovulering (Frantzen et al. 1997).

Når oocytten har fullført vitellogenese er den klar for neste steg i oogenesisen, dvs. gjenopptakelse av meiose akkompagnert av modningsprosesser. Dette reguleres hovedsakelig av tre faktorer; LH, MIH og MPF (maturation promoting factor). Mot modning begynner LH å virke direkte på ovariefolliklene (fig. 1B) som igjen starter produksjon av MIH. Hos laksefisk er steroidet $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnene-3-one ($17,20\beta$ -P) identifisert som MIH. Når $17\alpha,20\beta$ -P bindes til membranreseptorer på oocytten initieres modningsprosessen ved aktivering av MPF (Nagahama 1997). Produksjon av MIH er nødvendig for å indusere ovuleringen som er det siste steget i oogenesisen (Patiño & Sullivan 2002). Mot ovulering øker

ovarieproduksjon av prostaglandiner (PG), disse stimulerer oppbrytning av follikkelen slik at eggene kan frigjøres (Peter & Yu 1997).

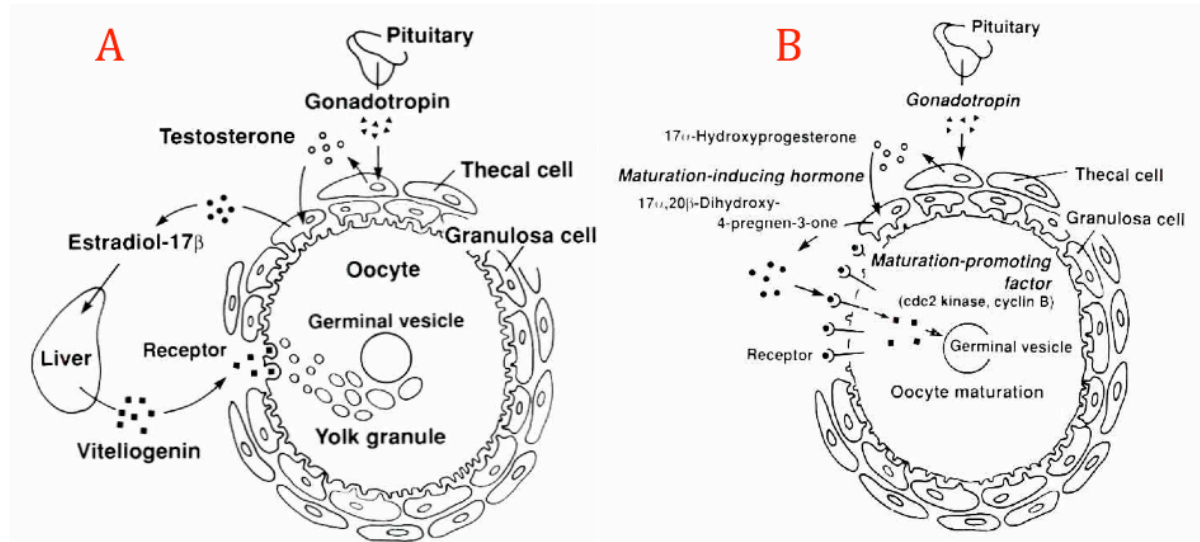


Fig. 1. A) Endokrin regulering av vitellogenesei teleoster: GTH-I/FSH stimulerer theca-cellene til å produsere T som aromatiseres til E_2 i granulosa-cellene. E_2 stimulerer hepatisk syntese av vitellogenin som inkorporeres i plommemassen. B) Endokrin regulering av oocytmodning hos teleoster: GTH-II/LH stimulerer theca-cellene til å produsere 17α -hydroprogesteron (17OHP) som konverteres til $17,20\beta$ -P i granulosa-cellene. $17,20\beta$ -P aktiverer MPF i oocytten (Nagahama 1994).

Hos hanner stimuleres produksjon av androgener både av FSH og LH (fig. 2A). Hovedsteroider som syntetiseres er T og 11-ketotestosteron (11-KT). Begge er med på å stimulere gonadevekst og spermatogenese. Dette skjer ved å gjøre Sertoli-cellene i stand til å skape et mikromiljø som responderer til germinalcellenes skiftende behov under utviklingen (Schulz & Miura 2002). 11-KT er ansett som primært androgen hos fisk da det ser ut til å ha større effekt enn T på utviklingen av sekundære kjønnsstrekk og spermatogenesisen. Androgener promoterer også reprodutiv adferd (Borg 1994). Plasma nivå av T og 11-KT er høy under de seneste stadiene av spermatogenesisen og reduseres dramatisk etter starten på spermieringen (Fostier et al. 1983). Spermiering er en forutsetning for vellykket befruktning og skjer rett før eller under gyteperioden. Prosessen involverer $17,20\beta$ -P som medierer en økning i seminal pH og intraspermial cAMP (fig. 2B). Dette resulterer i motile spermatozoa (Nagahama 1997). Sperma kan stripes fra hanner før 11-KT-konsentrasjonen er redusert til basalnivå (Baynes & Scott 1985).

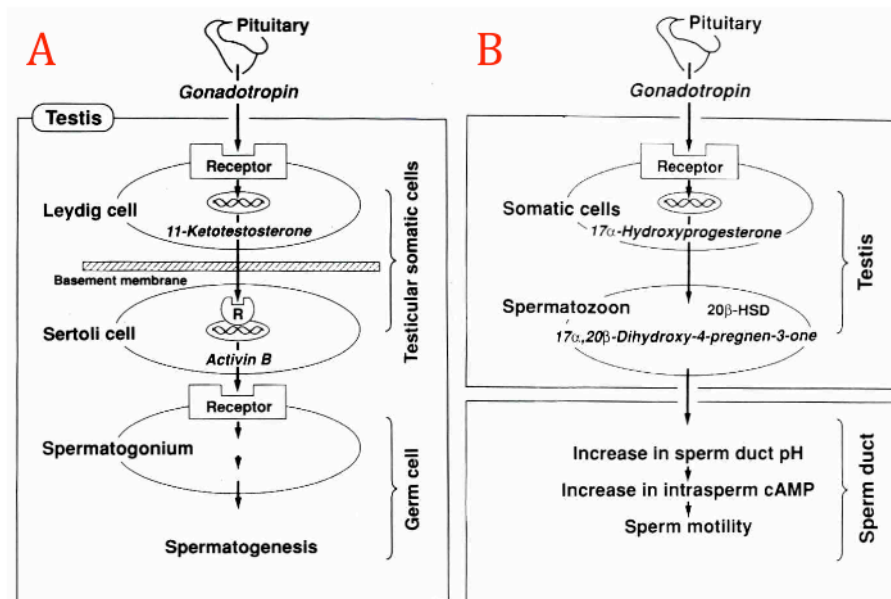


Fig. 2. A) Endokrin regulering av spermatogenese: GTH stimulerer 11-KT produksjon i leydig-cellene som stimulerer spermieproduksjon via activin B. B) Endokrin regulering av motilitet i spermceller: GTH stimulerer produksjon av 17OHP som omdannes til 17,20 β -P. 17,20 β -P medierer ervervelsen av motilitet i spermcellene (Nagahama 1994).

1.3 ØKOLOGISK ARTSDANNELSE

Økologisk artsdannelse er et konsept hvor seleksjon av egenskaper hos populasjoner som utnytter distinkte økologiske nisjer fører til direkte eller indirekte reprodutiv isolasjon. Mekanismene for prosessen reguleres hovedsakelig av habitatets biotiske og abiotiske faktorer, f. eks. klima, ressurser og fysisk struktur samt interaksjoner mellom og innad arter i form av konkurranse, predasjon eller mutualisme (Schluter 2001).

Økologisk artsdannelse kan skje på flere måter. Allopatri, eller geografisk artsdannelse, forekommer når en ytre barriere (f. eks. landmasse mellom to vann) hindrer flyt av gener mellom to populasjoner. Med tiden vil genetiske forskjeller akkumuleres i hver isolerte populasjon som en respons på egne selektive drivkrefter og miljøets varige endringer. Om barrieren forsvinner vil populasjonene ikke kunne slås sammen når kontakt reetableres. Dette forutsetter at en tilstrekkelig genetisk forskjell har oppstått under isolasjonen, slik at eventuelle hybrider har såpass lav overlevelsessevne at de elimineres (Bush 1975).

Allopatri befinner seg på en ekstrem ende av en skala. I den andre enden er artsdannelse gjennom sympatri (Schluter 2001). Sympatriske populasjoner oppstår ved genetisk divergens fra andeler av en opphavsart innenfor samme geografiske region etterfulgt av reprodutiv isolasjon (Bush 1975; Johnson & Gullberg 1998). Initierting av prosessen kan skyldes splittet

seleksjon på ressurser og habitat som en konsekvens av konkurranse og predasjon (Johnson & Gullberg 1998; Schluter 2001). En slik ressursdivergens mellom sympatriske populasjoner kan skje på to måter; nisjespesialisering og nisjeinvasjon. Nisjespesialisering betyr at ressurser deles inn fra en bred nisje til to smale nisjer, mens nisjeinvasjon omfatter en ekspansjon fra opphavsartens nisje til nye ressurser eller miljø (Schluter 2000; Knudsen et al. 2006). Trofisk adferd, morfologi og fysiologi kan endres raskt som følge av splittet seleksjon dersom miljøet har ikke-okkuperte ressurser (Johnson & Gullberg 1998).

Mekanismene som fører til reprodutiv isolasjon kan deles inn i før-parings- (faktorer som promoterer at et individ parer seg med en artsfrende) og etter-paringsmekanismer (f. eks genomisk inkompatibilitet). Før-paringsmekanismer kan virke på flere måter; (1) temporal isolasjon hindrer individer å gyte med hverandre pga. de er aktiv ved ulike tidspunkt på dagen eller har forskjellig gytesesong, (2) økologisk isolasjon gjør at individer gyter i sitt foretrukne habitat og dermed unngår å møte andre individer med annen økologisk preferanse, (3) i situasjoner hvor isolasjon knyttet til adferd vil potensielle partnere møtes men velge hverandre bort til fordel for sin egen art, (4) en mekanisk isolasjon skjer når overføring av sperma mislykkes til tross for at kopulering forsøkes. Post-paringsmekanismene skiller seg fra de sistnevnte ved at selve paringen finner sted, men videre utvikling hindres; (1) egget befruktes ikke til tross for overføring av sperma, (2) egget befruktes men zygoten utvikles ikke, (3) et hybrid embryo dannes, men med redusert levedyktighet, (4) hybrid er levedyktig, men har utviklet sterilitet, (5) hybrid er fertil og levedyktig, men videre generasjoner kan være som i punkt 3 og 4 (Mayr 1970).

1.3.1 SYMPATRI OG POLYMORFISME HOS ARKTISK RØYE

Flere arter av røye har vist betydelig fenotypisk variabilitet i og på tvers av lokaliteter. Dette er kjent som 'røye problemet' og innbefatter også arktisk røye (Behnke 1972). Taksonomisk under-inndeling har resultert i 29 arter av røye i Europa, hvorpå det senere er vist at samtlige tilhører én polymorfisk art, *Salvelinus alpinus*. Med polymorfisme menes en simultan tilstedeværelse av mer enn én usammenhengende genetisk kontrollert fenotyp i en populasjon (Savvaitova 1995; Jonsson & Jonsson 2001). Arktisk røye har større variasjon i fenotypisk uttrykk enn de fleste arter hvorpå ulike morfer kan skille seg fra hverandre med hensyn på størrelse, farge på gytedrakt, indre og ytre morfologiske strukturer, parasittfauna, vekstrate, beiteområde og diett, livshistorietrekk og adferd (Jonsson & Jonsson 2001; Klemetsen et al. 2003; Klemetsen 2010). Habitatsegregering er vanlig blant ulike morfer, der normal røye ser

ut til å foretrekke epipelagiske og litorale områder. Graden av segregering varierer mellom innsjøer samt med årstider, og det er nesten alltid overlapp mellom habitatene (Klemetsen et al. 1997).

Det er svært lite empirisk grunnlag for å anta at polymorfisme hos arktisk røye i Skandinavia skyldes allopatri. Fenomenet er grundig studert og ser ut til å ha sympatrisk opphav (Hindar 1986; Gislason et al 1999). I mange tilfeller antar man at en opphavsart og generalist har segregert til en ressurs spesialist med påfølgende morfologisk formasjon (Jonsson & Jonsson 2001). Stasjonære sympatriske morfer av arktisk røye er funnet i Sibir, Svalbard, Skandinavia, Canada, Storbritannia, kontinental Europa, Grønland og Island, hvor det i Thingvallavatn er påvist hele fire former (Klemetsen et al. 1997).

Polymorfisme ut i fra økologiske eller morfologiske egenskaper har ofte vært forvekslet med artsdannelse pga. manglende kunnskap om fenotypisk variasjon i populasjoner (Hindar & Jonsson 1993). Sympatriske morfer av arktisk røye har varierende grad av genetisk differensiering, fra en viss grad av paring mellom ulike former til komplett reprodutiv isolasjon (Gislason et al. 1999). I systemer hvor sistnevnte er tilfelle kan det argumenteres for at morfene bør betraktes som separate arter basert på konseptet om hva som klassifiserer en biologisk art, dvs. seksuelt reproduserende organismer (Jonsson & Jonsson 2001; Lawrence 2008). De kan imidlertid ikke ansees som en egen art pga. deres polyfyletiske opprinnelse, omgivelsenes lave alder og ustabile forhold og liten genetisk differensiering mellom morfer. Polymorfisme kan riktignok være forløperen til økologisk artsdannelse (Jonsson & Jonsson 2001).

1.3.2 SYMPATRISKE POPULASJONER I FJELLFRØSVATN, TROMS

I Fjellfrøsvatn (69°N), Målselv, Troms er det påvist en simultan tilstedeværelse av to ulike morfer av arktisk røye (Klemetsen et al. 1997). Disse er benevnt som litoral og profundal røye etter deres gytehabitat. Den profundale varianten blir ikke større enn 15 cm og oppholder seg i den profundale sonen hele livet der begge kjønn modnes rundt 7 cm. Ernæringen består av myke bunndyr som chironomidlarver, dvergertmusling og bentiske kopepoder. Den litorale formen blir opp til 40 cm og juvenil fisk beiter hovedsakelig på zooplankton av krepsdyr (Klemetsen et al. 2003; Knudsen et al. 2006). Dette tilsier at konkurranse om ressurser har drevet den profundale varianten til å utnytte en ny nisje som verken litoral røye eller andre monomorfe arter har benyttet seg av tidligere, dvs. nisjeinvasjon (Knudsen et al. 2006).

De to morfene har godt definerte økologiske nisjer med hensyn på tidspunkt og habitat for gyting. Normal røye gyter på grunt vann nærmere land, mens den profundale dvergformen gyter på dypt åpent vann. Tidspunktet for gyting er imidlertid forskjøvet med 4-5 måneder, hvor normalrøye parrer seg i september og profundalrøye i februar, dvs. morfene er reproduktivt isolert fra hverandre (Klemetsen et al. 1997). Det er også påvist genetiske forskjeller mellom formene (Westgaard et al. 2004).

1.4 BAKGRUNN OG MÅLSETTINGER

I Skogsfjordvatnet, Karlsøy, Troms er det tidligere rapportert av lokale hyttefolk om tydelige morfologiske forskjeller i den lokale bestanden av arktisk røye. I likhet med Fjellfrøsvatn har Skogsfjordvatnet sympatriske morfer av stasjonær littoralrøye og profundal dvergørøye. Hvorvidt sistnevnte har lignende livshistoriemønster som den i Fjellfrøsvatn er fremdeles usikkert. Observasjoner har imidlertid indikert en tredje variant i den profundale sonen som er større enn dvergmorfen og med distinkte karakteristikker som skiller den fra normalrøye.

Basert på denne informasjonen ble det under ledelse av professor Rune Knudsen gjennomført prøvefiske i Skogsfjordvatnet i 2009. Dette bekreftet tilstedeværelsen av en stasjonær piscivor profundalrøye. DNA-analyser har senere bekreftet en genetisk forskjell mellom morfene (pers. med. Rune Knudsen). Fra forundersøkelsene ble det også åpnet for at den nyoppdagede morfen hadde en forskjøvet reproduksjonssyklus med gyting i desember (pers. med. Rune Knudsen).

Formålet med denne undersøkelsen har vært å klargjøre mulige temporale forskjeller i reproduksjonsutviklingen hos begge kjønn av littoralrøye og piscivor profundalrøye i Skogsfjordvannet. For å belyse reproduksjonsutviklingen hos disse to morfene ble det foretatt målinger av kjønnssteroider (E_2 hos hunfisk og 11-KT hos hanfisk) og oocytstørrelse/GSI (hos hunfisk) fra materiale som ble samlet inn med rundt 1 mnd intervall i perioden august-september 2011.

2.0 METODE

2.1 FORSØKSFISK

Total 139 individer av vill Arktisk røye (*Salvelinus alpinus*) fra Skogsfjordvannet inngikk i forsøket. Av disse var 69 hunner hvorav 54 tilhørte den litorale formen, mens 15 hørte til den profundale. Av 70 hanfisk som ble brukt var 31 litorale og 39 profundale.

2.2 LOKALITET

Skogsfjordvannet (70° 00' N, 19° 10' Ø) er en oligotrof og dimiktisk innsjø lokalisert på Ringvassøya i Karlsøy kommune, Troms fylke (fig. 3). Innsjøen ligger 19 m.o.h. og er med sitt areal på 13,5 km² den største innsjøen i Nord-Europa som ligger på en øy. I den sørlige delen av vannet fins store dybdeområder (maks 80 meter) og en godt utviklet profundal sone. Den nordlige delen består av flere små øyer og store grunnområder. Innsjøen har en isfri periode på ca. 7 måneder (mai-desember). Skogsfjordvannet er lite vindutsatt og har et typisk kystklima med kalde somre og varme vintre. I nedslagsfeltet er lav-produktive fjellområder dominerende. Det omkringliggende vegetasjonsbeltet består hovedsakelig av løvtrær (bjørk, rogn og vier). På østsiden av vannet er det en del bebyggelse i form av hytter, hus og gårdsbruk, samt offentlig bilvei (Rv. 302). Skogsfjordelva har en lengde på 1,6 kilometer og munner ut i Skogsfjorden. I tillegg til arktisk røye, finnes det naturlige bestander av atlantisk laks (*Salmo salar*), anadrom og stasjonær ørret (*Salmo trutta*), trepigget stingsild (*Gasterosteus aculeatus*) og ål (*Anguilla anguilla*) (Bergesen & Klemetsen 1988; Christensen 1994).

2.3 INNSAMLING AV FISK

Innsamling av forsøksfisk ble gjort rundt den 10. i hver måned i perioden august-desember 2011, med unntak november der det ble foretatt to samlinger (10.11 og 20.11). Garn med maskevidder fra 25 til 45 mm ble satt i profundale og littorale habitat (fig. 3) og stod rundt 24 timer før de ble tatt opp. Garn i littoralsonen ble satt på dybder rundt 15 meter, mens profundalgarn ble satt fra 25 til 45 m (fig. 3).

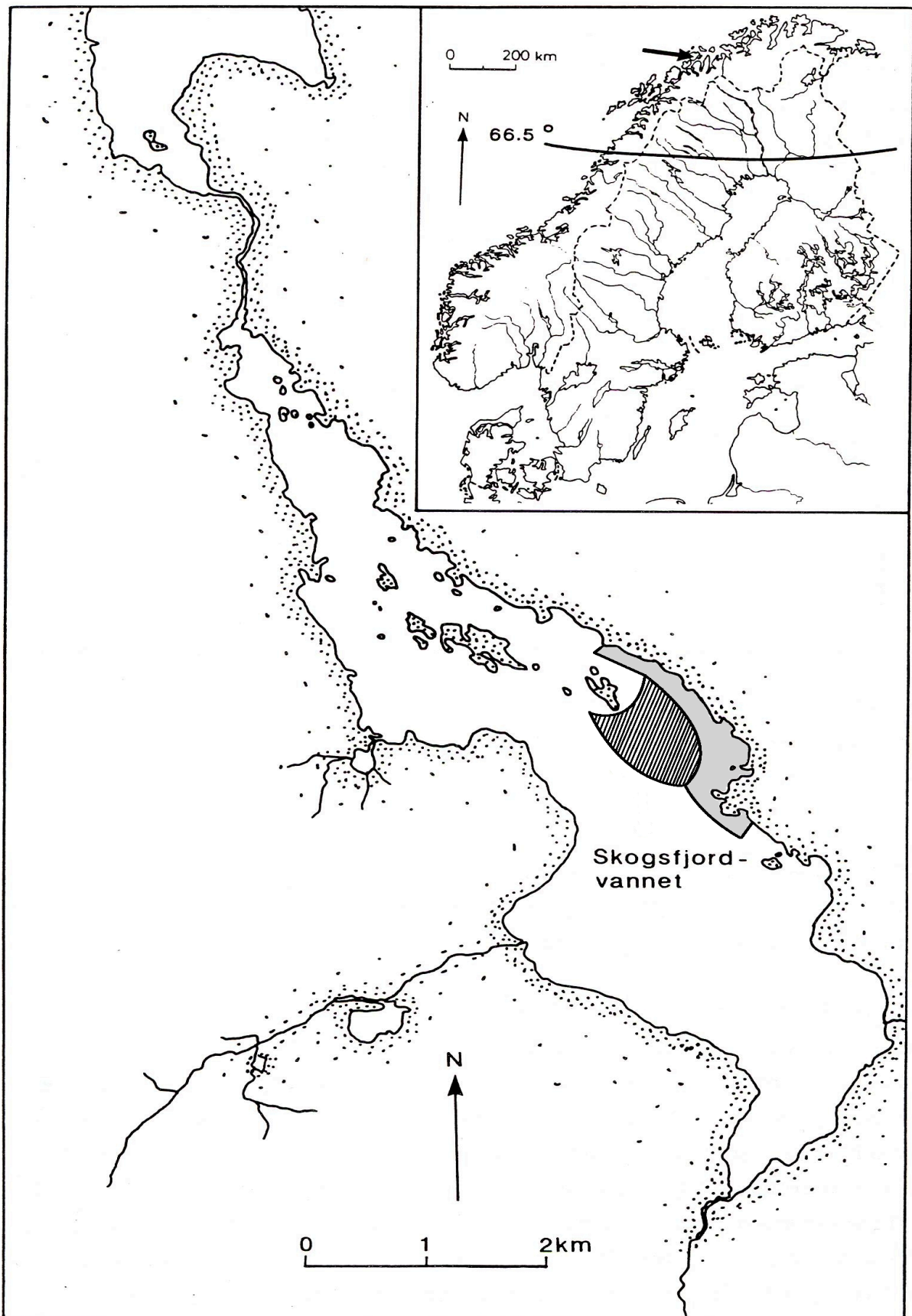


Fig. 1) Oversiktskart over Skogsfjordvannets beliggenhet i Fennoskandia med polarsirkelen og samplingsoner. Litoral samplingsone markert med grå. Profundal samplingsone er skravert (modifisert fra Christensen 1994).

2.4 SAMPLINGSPROSEDYRE

Fisken ble fortløpende fjernet fra garnet etter hvert som det ble halt opp. Røye som var i live ble umiddelbart inspisert for tegn som tydet på kjønnsmodning, hvorpå det ble tatt ut blodprøver fra individer som sannsynligvis ville gjennomføre gytingen utover høsten/vinteren. Samtlige fisk ble avlivet med slag i hodet umiddelbart etter prøvetaking. Senere på året ble utgytt fisk observert hyppigere og samlet for blod.

Til blodprøvetakingen ble det anvendt 2 ml vacutainerrør med 57.2 U.S.P. enheter Li^+ -heparin (BD Diagnostics, Franklin Lakes, New Jersey). Blodprøver (1-2 ml) ble tappet fra caudalårene og deretter merket og umiddelbart satt på is. Videre ble blodprøvene separert gjennom sentrifugering i 10 min ved 3800g under 0-2°C. Plasmaet fra hver fisk ble overført til 2 ml eppendorfrør og frosset ned ved -32°C i påvente av steroidanalyser.

2.5 IDENTIFISERING AV MORFER

Morfene ble bestemt basert på ekstern morfologi (fig. 4). Profundal røye har en slankere kroppsfasong med svak gul-brun farge og nyanser av messing/bronse. Den har et større, mer forlenget hode og større øyne enn litoralformen. Metoden for utvelgelse er validert ved hjelp av DNA-analyser (pers. med. Knudsen).

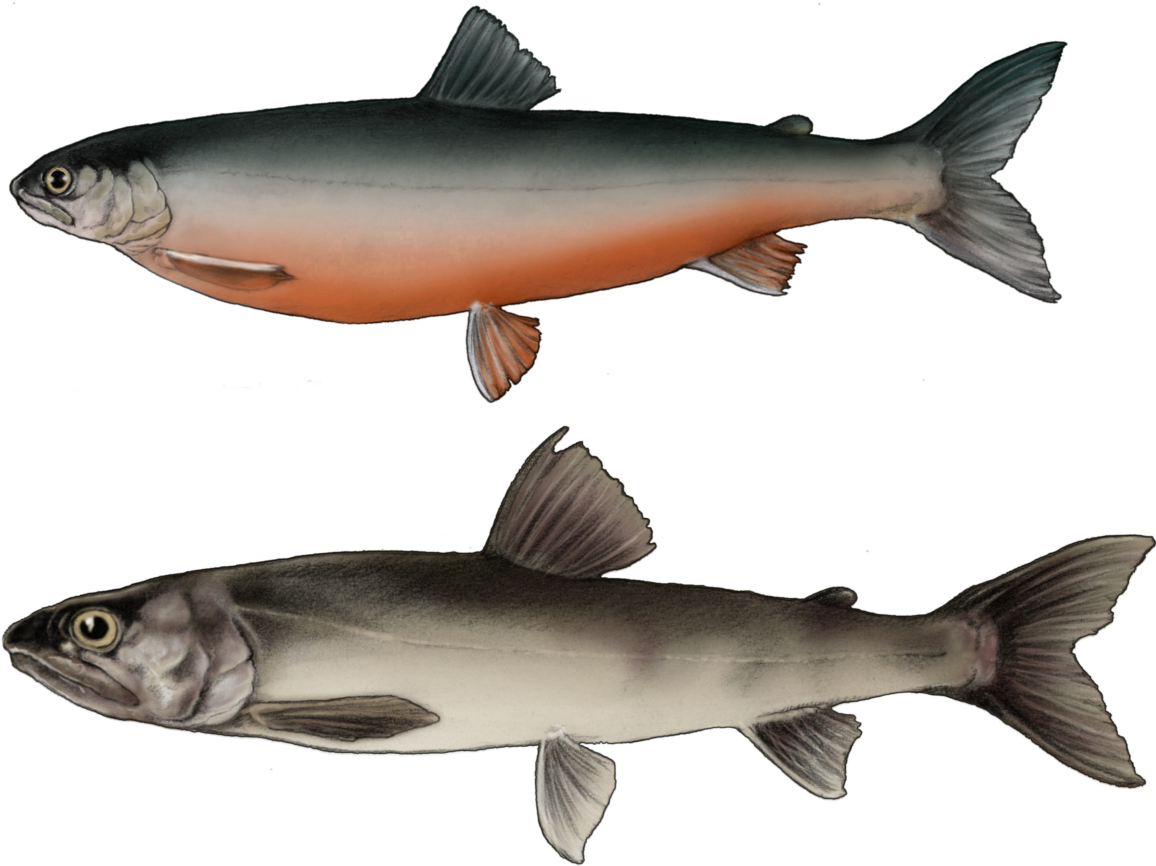


Fig. 4) Litoral- (øverst) og profundal røye (nederst) fra Skogsfjordvatn (illustrasjon av Sigrid Ø. Skoglund).

2.6 GONADOSOMATISK INDEX OG OOCYTTMÅLING

Fisken ble dissekert hvorpå gonadeprodukter ble fjernet og veid, og deretter lagret på Gilsonvæske (100 ml 60% alkohol + 800 ml H₂O + 15 ml 80% salpetersyre + 18 ml eddiksyre + 20 g kvikksølvklorid). Gonadosomatisk index (GSI) ble beregnet ut i fra formelen:

$$\frac{GW}{FW} \times 100 \%$$

hvor GW er vekten av gonadeprodukter og FW er fiskens totalvekt. GSI ble beregnet for samtlige 69 hunnrøyer med følgende fordeling av antall fisk per måned; 9. august: 10 litoral/2 profundal, 12. september: 8 litoral/1 profundal, 10. oktober: 17 litoral/4 profundal, 10. november: 14 litoral/2 profundal, 20. november: 2 profundal og 9. desember: 5 litoral/4 profundal.

Oocyttenes diameter ble målt på 49 av hunnene det var samlet blod fra i feltperioden, hvorav 40 kom fra den litorale populasjonen mens de resterende 9 tilhørte den profundale varianten.

Seksten oocytter fra hvert individ ble målt ved hjelp av mikroskop og måleokular. Gjennomsnittlig diameter ble deretter regnet ut på bakgrunn av målingene.

2.7 KVANTIFISERING AV STEROIDE KJØNNSHORMONER

Samtlige målinger ble utført i perioden 26. januar–23. mars ved Norges fiskerihøgskole, Universitetet i Tromsø. Uavhengig av morf ble det for 67 hunnfisk målt plasmanivå av E₂ (pga. manglende blodprøver fra to profundale hunner fra 9. desember kunne steroidanalyse ikke gjennomføres for disse individene), mens det for 70 hanfisk ble gjort målinger på 11-KT. Analysene ble utført ved hjelp av radioimmunoassay (RIA) i henhold til protokoll utarbeidet med bakgrunn i Schulz (1985) og validert av Frantzen et al. (2004a) og Tveiten et al. (2010).

RIA er en immunologisk analysemetode hvor to antigen konkurrerer om bindingssteder på et antistoff. Antistoffet har reseptorlignende egenskaper, dvs. det har spesifikke bindingssteder for antigenet en måler på. Antigenet i denne sammenheng er en ukjent mengde kjønnshormon fra plasmaprøven og en kjent mengde av det samme hormonet merket radioaktivt med tritium (³H). Metoden forutsetter et overskudd av antigen og underskudd av antistoff. Når systemet har nådd likevekt separeres frie antigen ut hvorpå det inntreter et inverst proporsjonalt forhold i radioaktivitet (cpm). Dette måles i fraksjonen av antistoff-bundet steroid. En lav aktivitet i prøven tilsier en situasjon hvor ikke-radioaktivt merket steroid utkonkurrerer radioaktivt merket steroid. Aktiviteten i hver prøve måles opp mot en standardkurve med kjent konsentrasjon (ng/ml).

2.7.1 EKSTRAHERING AV STEROIDER

Før igangsetting av analyseprosessen ble steroider fra samtlige plasmaprøver ekstrahert ved bruk av diethylether (DEE). Fra hver prøve ble 200 µl plasma tatt ut og overført til 16x125 mm glassrør, disse ble det videre tilsatt 4 ml DEE og satt til røring i 4 minutter. Vannfasen i rørene ble videre frosset inn over flytende nitrogen. DEE med fettløselige forbindelser, deriblant steroider, ble deretter overført til 12x75 mm glassrør. Rørene ble deretter plassert i vannbad (45°C) i ca. 30 min til DEE var dampet av. Videre ble 600 µl (3x fortykning) RIA-buffer (1L: 1,00 g gelatin, 4,38 g NaH₂PO₄ + 2H₂O, 21,84 g Na₂HPO₄ + 12H₂O, 9,00 g NaCl, 1 ml Na-azid 5% løsning, MilliQ-vann) tilsatt og rørene satt til side i 15 min før de ble vortexet og dekantert til 2 ml eppendorfrør.

2.7.2 RADIOAKTIVE STEROIDER (TRACER)

Radioaktivt merkede steroider ble oppbevart i EtOH mellomstock-løsninger ved 4°C. Tracer for begge steroider ble fortynnet til 10.000 cpm/50 µl med RIA-buffer, hhv. 19 ml RIA-buffer + 55 µl ³H-E₂ og 12 ml RIA-buffer + 420 µl ³H-11-KT. For å teste aktiviteten ble 50 µl tracer + 600 µl RIA-buffer overført til tellerør hvorpå det ble tilført 7 ml tellevæske (Ultima Gold XR scintillasjonsvæske). Hvert rør ble deretter forseglet, ristet og målt for β-stråling i en scintillasjonsteller (Tri-CarB 2900TR, Perkin Elmer Inc.) i 2 x 5 min.

2.7.3 ANTISTOFFER

Steroide antisera (AS) (produsert i hvite kaniner) fortynnet 1:9 med RIA-buffer ble oppbevart ved -80°C. For konservering ble det etter tining tilsatt noen korn Na-azid før videre lagring ved 4°C. Begge 10x fortynninger ble viderefortynnet til en 500x mellomfraksjon (30 µl AS + 1,47 ml RIA-buffer), ut i fra disse ble bruksløsninger på hhv. 18.000x (550 µl 500x AS-E₂ + 19,25 ml RIA-buffer) for estradiol og 20.000x for 11-ketotestosteron (500 µl 500x AS-11-KT + 19,5 ml RIA-buffer) lagd.

2.7.4 STANDARDKURVE

På bakgrunn av ulike konsentrasjoner av ikke-radioaktive steroider ble det satt opp standardkurver for hvert steroid som ble analysert. En 500 µg/ml mellomfraksjon av det aktuelle steroidet løst i EtOH (oppbevart ved 4°C) ble viderefortynnet 250x (10 µl 500 µg/ml mellomfraksjon + 2,49 ml RIA-buffer) til en 2 µg/ml standard-stockløsning. Stockløsning (50 µl) og RIA-buffer (2,45 ml) ble deretter overført til 15 ml sentrifugerør som ga en konsentrasjon på 2000 pg/50µl. Røret ble merket S9 og tjente som grunnlag for resten av standardkurven. Øvrige standarder (S8-S1) ble tilgjort ved å fortynne nedover i et 1:1 forhold (1 ml S9 + 1 ml RIA-buffer = S8 osv.) med RIA-buffer som ga følgende konsentrasjoner: 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.2, 15.6 og 7.8 pg/µl.

2.7.5 DEXTRAN COATED CHARCOAL SOLUTION (DCC)

DCC-løsningen har som funksjon å absorbere frie antigen i analysevæsken, dvs. steroider som ikke er bundet opp til antistoff. Aktivert kull (1,0 g) og dextran T70 (0,1 g) ble løst i 100 ml RIA-buffer. Løsningen ble videre satt til røring i magnetrører ved 4°C i 1 time og deretter oppbevart i kjøleskap. DCC-løsningen ble alltid rørt i ca. 15 minutter på is før bruk.

2.7.6 RADIOIMMUNOASSAY

I første omgang ble det gjennomført 6 RIA fordelt på 3 assay per steroid, hvor samtlige prøver ble analysert ved 3x fortykning. Pga. begrenset sentrifugekapasitet gikk det maksimalt 29 prøver per assay.

I et fullt assay ble totalt 80 12x75 mm glassrør anvendt. Dette inkluderte to paralleller av; total bound (TB), NSB (non-specific binding), 9 standarder og 29 prøver, hvor TB angir hvor mye radioaktivitet som bindes uten konkurranse og NSB viser en minimumsgrense for aktivitet i en prøve. Ulike mengder buffer, standard, prøve, tracer og antistoff ble pipettert til rørene i henhold til tabell 1. I tillegg ble det tatt ut 50 μl ^3H + 600 μl RIA-buffer direkte til tellerør for å representere total count (TC), dvs. tracerens totale aktivitet. Rørene ble deretter ristet, dekket til med aluminiumsfolie og inkubert over natten ved 4°C.

Tabell 1: Oversikt over reagenter tilsatt i hvert 12x75 mm rør. Totalt 80 rør (TBx2, NSBx2, Std.x18, Pr.x58. Alle volum er i μl .

	<i>Buffer</i>	<i>Standard</i>	<i>Prøve</i>	^3H	<i>Antistoff</i>
TB	100	-	-	50	200
NSB	300	-	-	50	-
Std. S1-S9	50	50	-	50	200
Prøve 1-29	-	-	100	50	200

Etter ca. 16 timer ble prøvene satt på is, tilsatt 300 μl kald DCC-løsning og inkubert i 5 min. Rørene ble deretter sentrifugert (5 min ved 4°C rundt 4200g) slik at frie antigen ble bundet til det aktive kullet og akkumulert i bunnen av røret. Supernatanten, dvs. antigen bundet til antistoff i RIA-buffer, ble dekantert til tellerør som igjen ble tilsatt 7 ml tellervæske (Ultima Gold XR). Rørene ble videre forsegle og ristet før måling av β -stråling i scintillasjonsteller.

2.8 STATISTIKK OG DATABEHANDLING

Statistiske analyser ble gjennomført ved bruk av SPSS 19 (IBM Corporation, New York) eller ved manuelle beregninger i Microsoft Excel for mac 2011. Mann-Whitney U-test ble benyttet for å teste på forskjeller i utviklingen av de ulike reproduksjonsparameterene (E_2 , 11-KT, GSI, oocytstørrelse) mellom morfene over tid. Mann-Whitney U er en ikke-parametrisk test for å sammenligne forskjeller mellom to uavhengige populasjoner hvor det ikke er normalfordelt (Kristianslund 1985). Signifikansnivå ble i utgangspunktet satt til $p < 0,05$ og Bonferroni-justert for å korrigere for flere sammenligninger.

I og med at dataene var åpenbart ikke normalfordelte, så er også data presentert som medianverdier \pm 50/80% percentiler.

Verdier for 10. og 20. november ble slått sammen for å kunne utføre en statistisk sammenligning av målte parametere mellom morfene.

3.0 RESULTATER

3.1 E₂ - PROFIL HOS LITORALE HUNNER

Det ble funnet klare temporale endringer i plasmanivå av E₂ hos de litorale hunnene. E₂ var høyt i august og september, med medianverdier på henholdsvis 10,5 og 14,6 ng/ml (fig. 5). Spredningen var relativt stor, med høyest registrerte verdi på 59,9 og laveste på 4,3 ng/ml i august og tilsvarende 37,0 og 1,2 ng/ml i september. Fra 10. oktober og videre utover i forsøksperioden ble det registrert reduserte plasmanivå av E₂ (medianverdier; 0,6–1,8 ng/ml), med unntak av et individ i oktober som hadde et svakt forhøyet nivå på 4,4 ng/ml og to individ i november med E₂-verdier på henholdsvis 3,01 og 3,84 ng/ml.

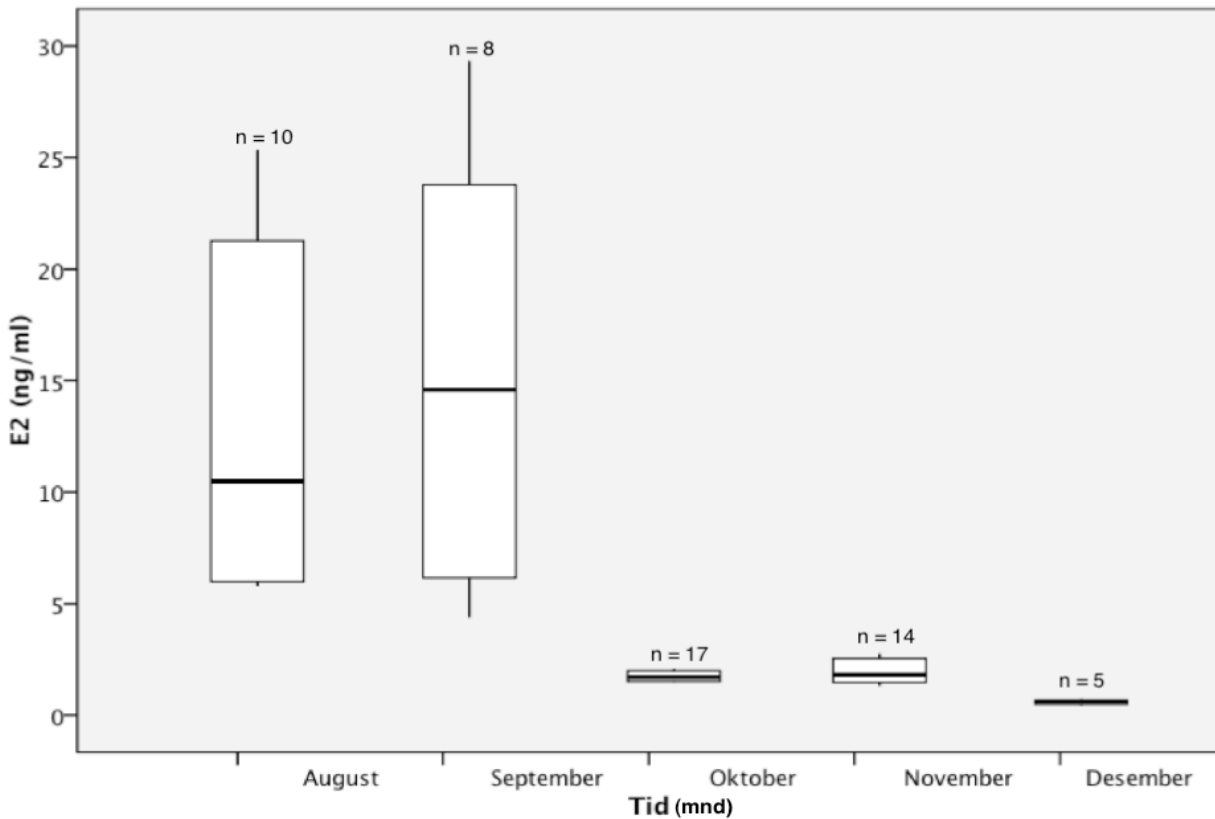


Fig. 5) Endringer i plasmakonsentrasjon av E₂ hos litoral hunnrøye. Box-plot viser medianverdier, midtre 50%, og 80% persentiler av verdier. (n) er antall individer fra hver måned.

3.2 E₂ – PROFIL HOS PROFUNDALE HUNNER

Profundale hunner hadde generelt sett lave eller svakt forhøyede plasmanivå av E₂ gjennom hele innsamlingsperioden, med unntak av to individ som hadde klart forhøyede nivå av E₂ på henholdsvis 15,1 (10. oktober) og 14,5 (20. november) ng/ml (fig. 6). Det ble ikke funnet forhøyede nivå av E₂ hos profundale hunnrøyer samlet i desember.

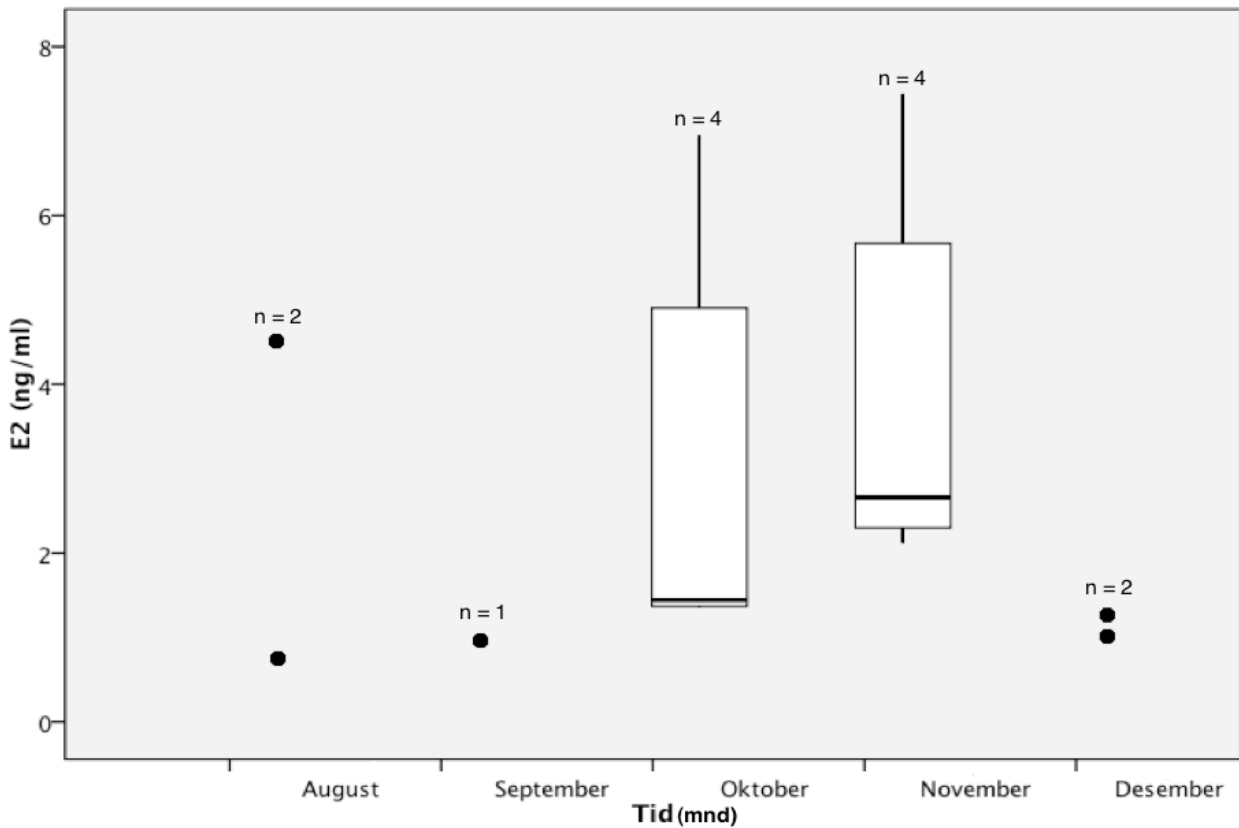


Fig. 6) Endringer i plasmakonsentrasjon av E₂ hos profundal hunnøye. Box-plot viser medianverdier, midtre 50%, og 80% persentiler av verdier. (•) viser enkeltverdier. (n) er antall individer fra hver måned.

3.3 11KT-PROFIL HOS LITORALE HANNER

Hos litorale hanner ble det også registrert klare temporale endringer i plasmanivå 11-KT. Verdiene var svakt forhøyet i august (medianverdi; 5,6 ng/ml) etterfulgt av en klar økning i september (medianverdi; 28,4 ng/ml) og en nedgang fra oktober og videre utover i innsamlingsperioden (medianverdier; 0,6–3,4 ng/ml) (fig. 7). Spredningen var størst i september med høyeste verdi på 55,6 ng/ml og laveste verdi på 12,6 ng/ml. Fra 10. oktober og utover ble det funnet svakt forhøyet verdier av 11-KT hos kun to individ, med henholdsvis 6,7 ng/ml (10. oktober) og 6,1 ng/ml (10. november).

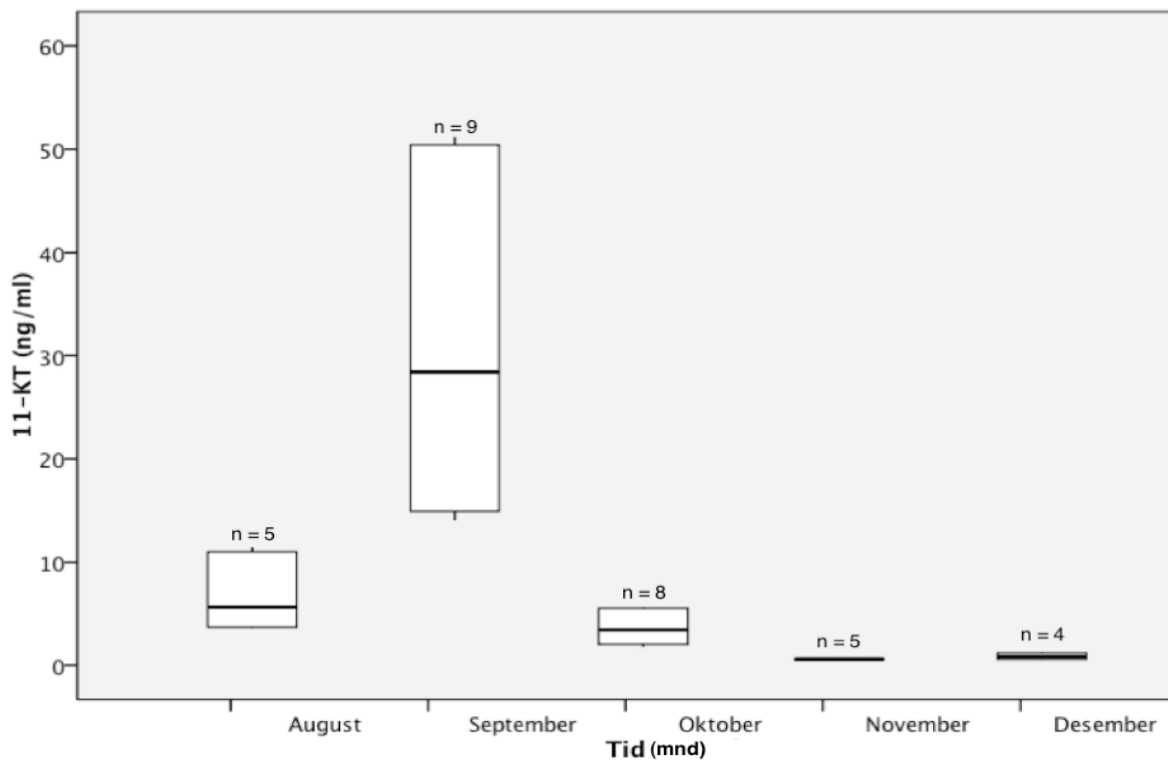


Fig. 7) Endringer i plasmakonsentrasjon av 11-KT hos litoral hanrøye. Box-plot viser medianverdier, midtre 50%, og 80% persentiler av verdier. (n) er antall individer fra hver måned.

3.4 11KT-PROFIL HOS PROFUNDALE HANNER

Det ble også funnet klare temporale endringer i 11-KT hos profundale hanner. Nivåene av 11-KT var lav i august (medianverdi; 2,8 ng/ml) med en jevn økning frem til 10. oktober (medianverdi; 33,7 ng/ml), etterfulgt av en gradvis nedgang til basale nivå hos hanner samlet 9. desember (medianverdi; 0,8 ng/ml) (fig. 8). Høyeste verdi ble funnet hos et individ samlet 20. november (57,4 ng/ml).

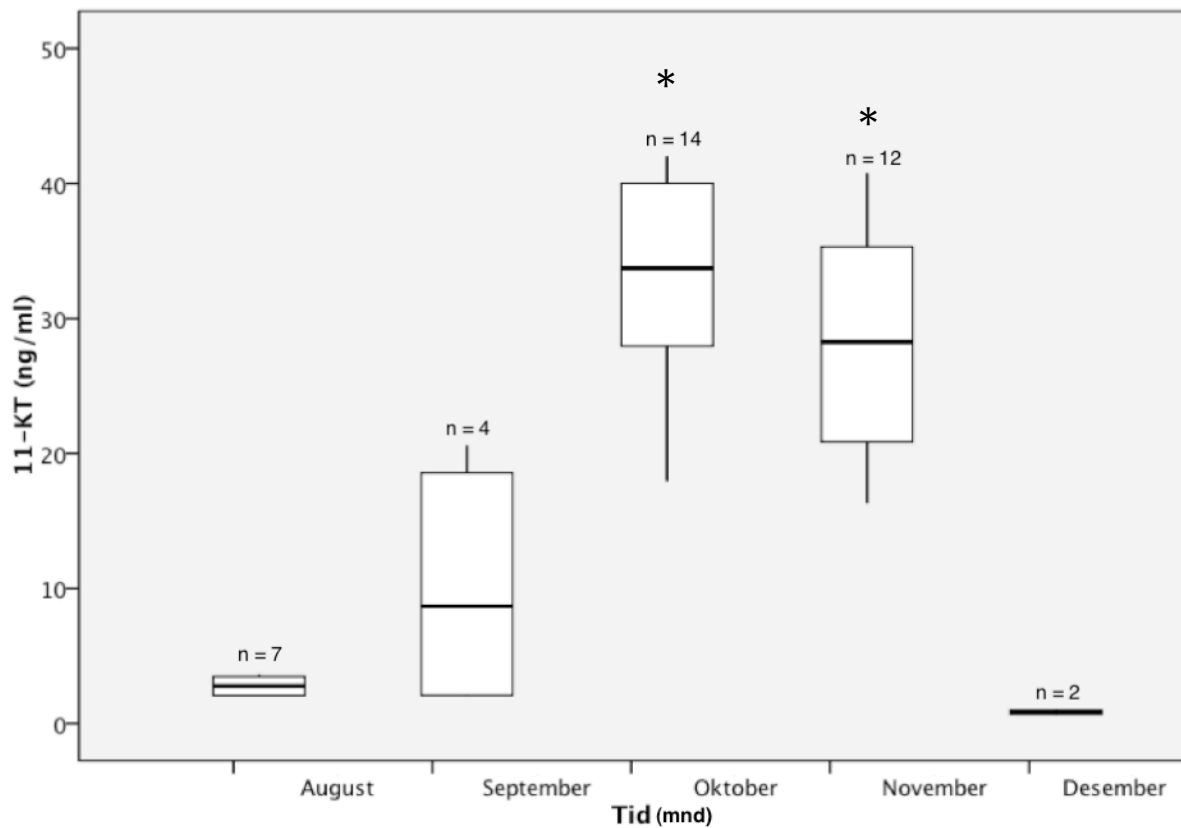


Fig. 8) Endringer i plasmakonsentrasjon av 11-KT hos profundal hanrøye. Box-plot viser medianverdier, midtre 50%, og 80% persentiler av verdier. (n) er antall individer fra hver måned. (*) angir signifikant forskjell ($p < 0.01$) fra litoral røye.

3.5 OOCYTTER

Det ble funnet klare forskjeller i oocyttdiameter hos profundal versus litoral hunfisk. Diameter på oocytter hos litoralrøye var betydelig forøket allerede i august (medianverdi; 3,3 mm) med en topp i september (medianverdi; 4,3 mm). Fra 10. oktober og utover ble det kun funnet utgytt røye med små nestegenerasjons oocytter (medianverdier; 0,7-1,0 mm) (fig. 9). Det ble også funnet klare temporale endringer i oocyttdiameter hos profundale røyer, men mønsteret var forskjellig sammenlignet med litoral røye. Hos den profundale røya ble det registrert kun små oocytter i september og oktober, og klart vitellogene oocytter i november og desember med gjennomsnittlige oocyttdiameter på henholdsvis 4,0 og 4,7 mm (fig. 10).

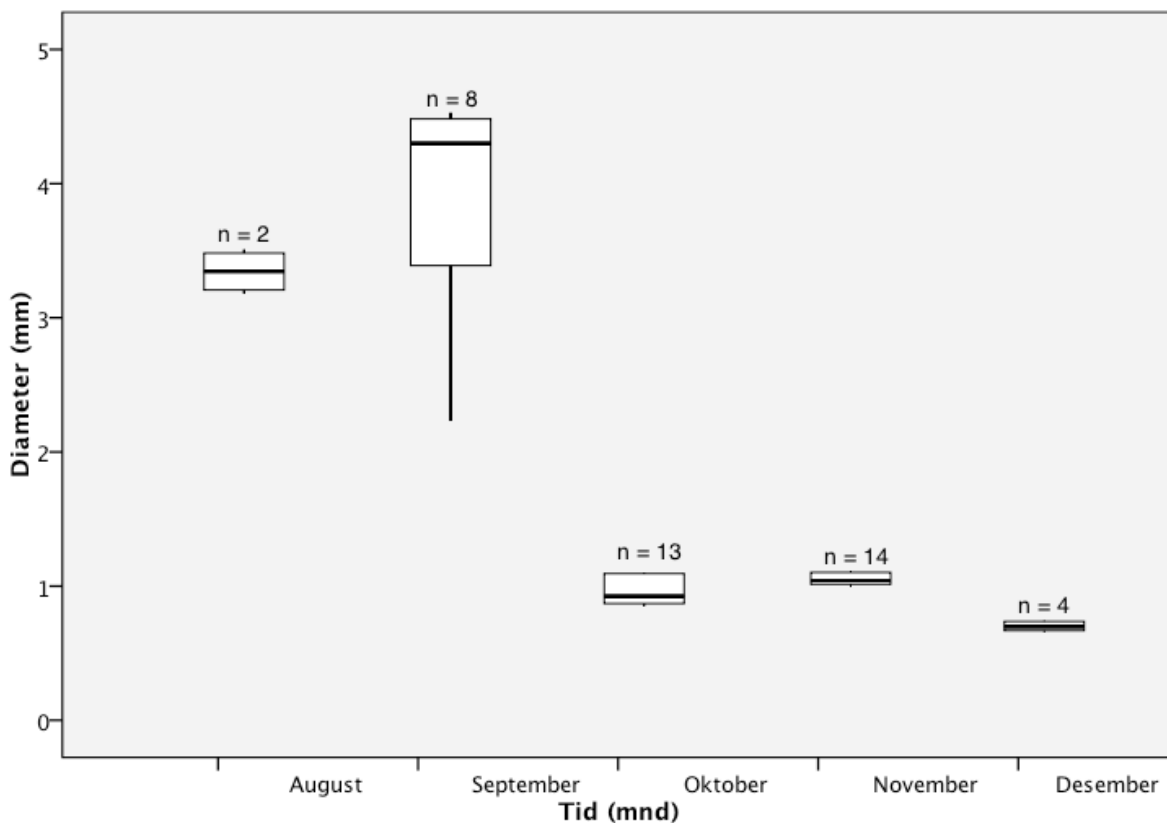


Fig. 9) Endringer i oocyttdiameter hos litoral hunrøye. Box-plot viser medianverdier, midtre 50%, og 80% persentiler av verdier. (n) er antall individer fra hver måned.

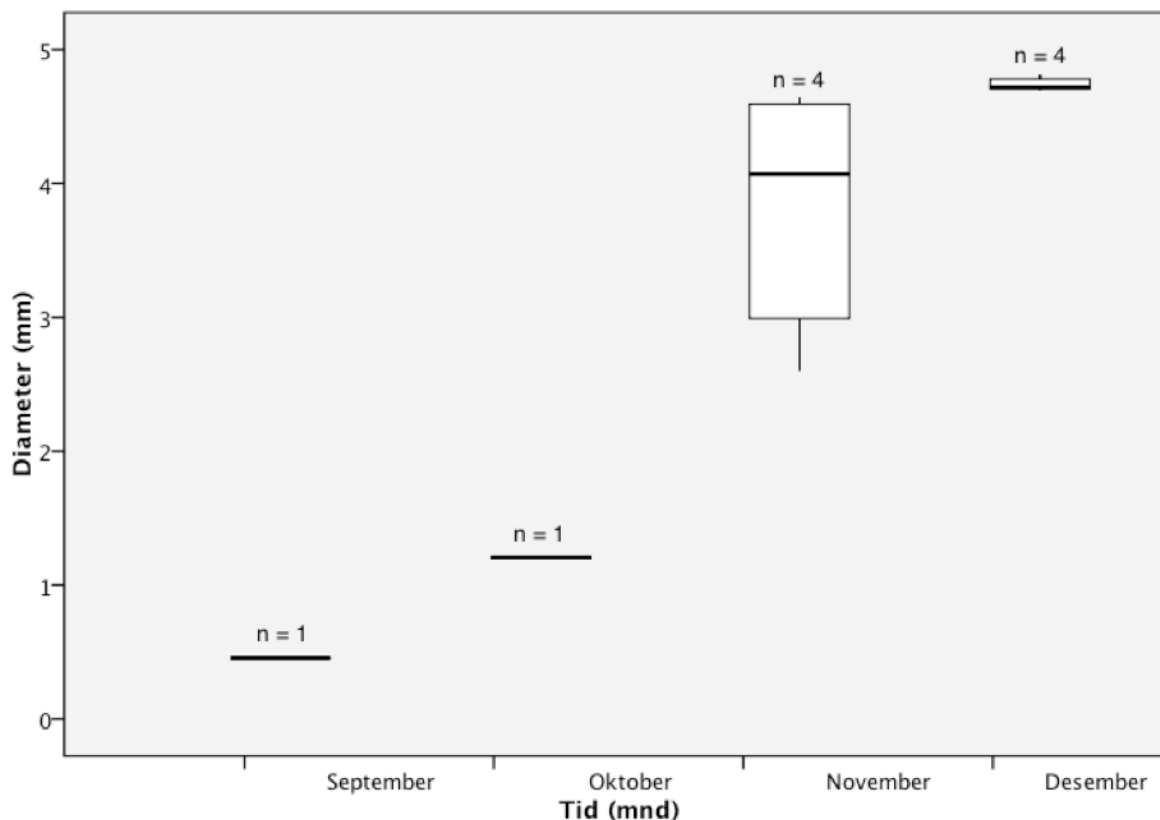


Fig. 10) Endringer i oocyttdiameter hos profundal hunrøye. Box-plot viser medianverdier, midtre 50%, og 80% persentiler av verdier. (n) er antall individer fra hver måned. Merk at tidsperioden starter fra september.

3.6 GONADOSOMATISK INDEKS

Utviklingen i gonadosomatisk indeks fulgte samme mønster som for utviklingen av oocyttdiameter, med en økning fra 6,0% i august til 12,6% i september og deretter lave GSI-verdier fra oktober og utover (0,6-1,1%) hos litoral røye (fig. 11). Hos den profundale røya derimot, var det ingen økning i GSI før etter 10. oktober, med en topp på 15,4% i desember (fig. 12). Det ble registrert et individ blant profundalrøyene som var rennende (20. november), men ingen som var utgytt.

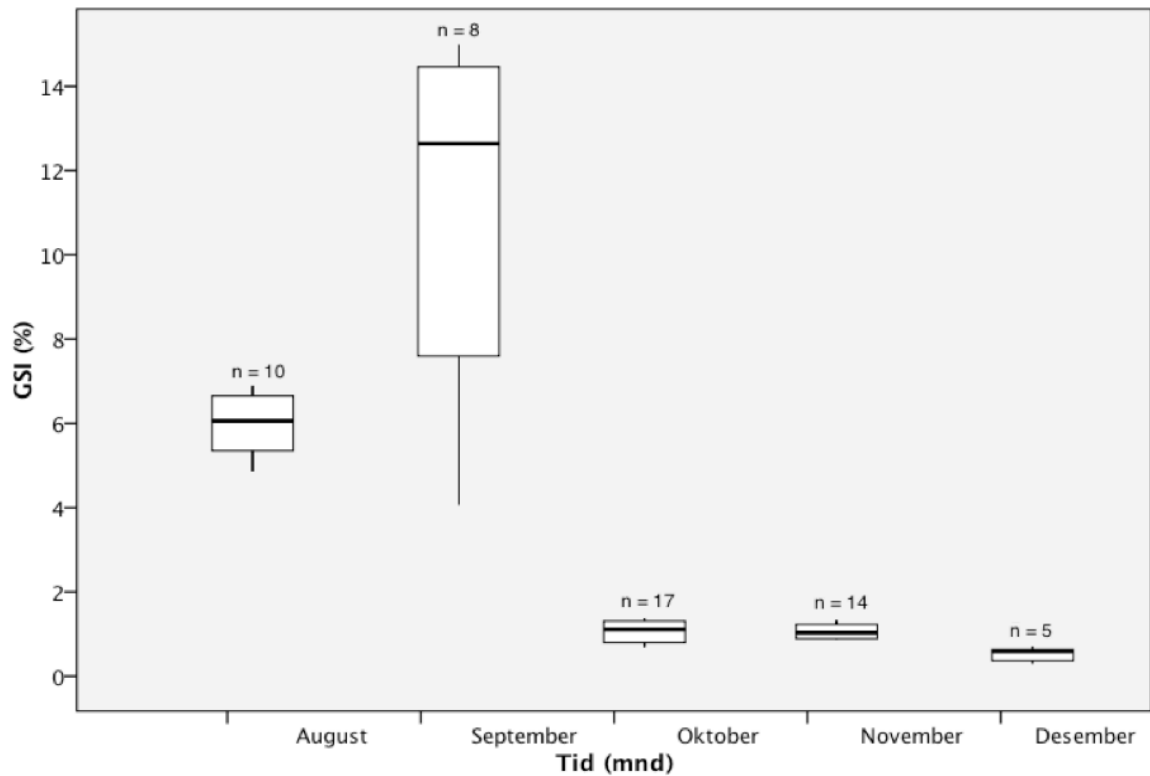


Fig. 11) Endringer i GSI hos littoral hanrøye. Box-plot viser medianverdier, midtre 50%, og 80% persentiler av verdier. (n) er antall individer fra hver måned.

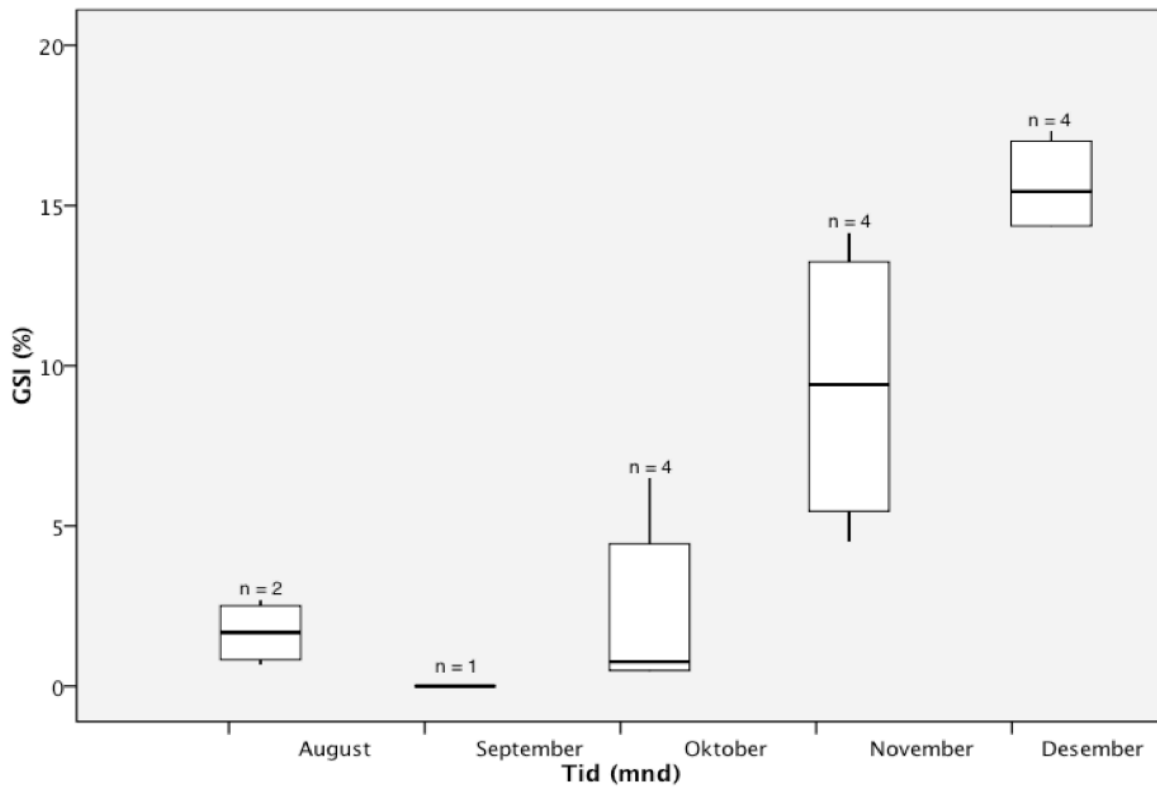


Fig. 12) Endringer i GSI hos profundal hunrøye. Box-plot viser medianverdier, midtre 50%, og 80% persentiler av verdier. (n) er antall individer fra hver måned.

4.0 DISKUSJON

I denne undersøkelsen ble det funnet klare temporale forskjeller i reproduksjonsutviklingen hos litoral og profundal røye i Skogsfjordvannet, som indikerer en reprodutiv isolasjon mellom disse to morfene i dette vassdraget. Dette underbygges av ulike tidsforløp i utviklingen av både kjønnssteroider (hos begge kjønn) og oocytstørrelse/GSI (hos hunnfisk) samtidig som reproduksjonsutviklingen synes å være synkron hos begge kjønn innenfor hver av morfene. Basert på forskjellene i utviklingsmønstre for de ulike parameterene som er målt synes gyting hos den profundale røya å foregå en gang fra midten til slutten av desember, rundt 2 måneder senere sammenlignet med den litorale røya der gyting antas å foregå i slutten av september. Mine data er i samsvar med andre undersøkelser som har vist temporale forskjeller i reproduksjonsutvikling hos sympatriske morfer av røye (Määr 1949; Jonsson & Hindar 1982; Hesthagen et al 1995; Elliot & Baroudy 1995; Klemetsen et al. 1997).

4.1 SAMMENLIGNING AV REPRODUKTIVT UTVIKLINGSMØNSTER

4.1.1 HANNER

De temporale endringene i 11-KT produksjon utgjør en forskjell på 1-2 måneder mellom morfene i tidspunkt for høyest registrerte steroidproduksjon.

Hos de fleste teleoster er plasmanivå av T og 11-KT høy under de senere stadier av spermatogenesisen (Nagahama 1994) hvorpå maksimal produksjonskapasitet markerer starten på spermiering. I det prosessen initieres faller androgenproduksjonen (Fostier et al. 1983; Tveiten et al. 1998). Spermieringen er en forutsetning for vellykket befruktning og skjer rett før, eller under gyting (Nagahama 1994). Prosessen medieres av $17,20\beta$ -P som sørger for økning i seminal pH og motile spermatozoa (Nagahama 1994; Schulz & Miura 2002).

Basert på androgennivå hos litoral røye i september er det tydelig at spermatogenesisen er aktiv og at enkelte individer spermierer. Fallet i plasmakonsentrasjon mot den 10. oktober tilsier at spermatogenesisen er fullført før denne dato og at spermieringen kan være avsluttet. I den profundale populasjonen tyder en svak økning i 11-KT i september på at flere individer har initiert spermatogenesisen. Spermieringen kan være startet allerede den 10. oktober i profundalpopulasjonen, ettersom de høyeste 11-KT verdiene ble registrert da. Disse verdiene er imidlertid halvparten så lave som Tveiten et al. (1998; 2010) fant under den mest aktive spermieringen hos røye. Dette kan være en indikasjon på at maksimal spermproduksjon ikke

er oppnådd og at fisken snarere befinner seg i et senere stadium av spermatogenesen (Nagahama 1994). Man kan derfor spekulere i om det reelle toppunktet for spermiering i profundalpopulasjonen skjer et sted mellom samplingsdatoene. Det ble observert enkelte hanner den 20. november med 11-KT nivå tilsvarende det som tidligere er registrert under spermiering (Tveiten et al. 1998; Frantzen et al. 2004a; Tveiten et al. 2010). Dette kan indikere at spermieringen er på sitt mest aktive rundt dette tidspunktet.

Det er imidlertid vanlig å se en spermieringsperiode som strekker seg lengre enn ovuleringsperioden, dette fordi hannene må være klar til å kunne levere sperma når gytingen skjer (Frantzen et al. 2004a).

4.1.2 HUNNER

Kjønnssteroidprofil hos litoral røye viser en økning i august før den når toppen i september og flater ut fra og med oktober. Dette er en typisk utvikling av steroidforløp hos røye hvor hovedtyngden av gonadeinvesteringen skjer fra sensommeren til eggene modnes i månedsskiftet september/oktober (Frantzen et al. 1997; Tveiten et al. 1998). Den gradvise økningen i E_2 i perioden august-september hos litoralrøye er tidligere også observert i laboratorieforsøk med sjørøye (Hammerfest-stammen) (Frantzen et al. 1997; Tveiten et al. 1998; Frantzen et al. 2004a; Tveiten et al. 2010). Gjennom hele perioden ser det ut til å være en direkte korrelasjon mellom plasmanivå av E_2 , oocytstørrelse og gonadosomatisk indeks. Dette er en indirekte bekreftelse på hormonets evne til å stimulere hepatisk syntese av vitelloginin som akkumuleres i oocytene og gir økt gonadevekt. Vitellogenese er på sitt mest aktive når E_2 -produksjon er høyest (Specker & Sullivan 1994; Frantzen et al. 1997) og hos litoral røye i denne undersøkelsen ser dette ut til å være rundt 12. September.

Pga. lite prøvemateriale er det i utgangspunktet problematisk å trekke direkte slutninger om hvordan E_2 -produksjon hos profundal røye forløper utover høsten. E_2 er normalt korrelert til GSI (Specker & Sullivan 1994; Frantzen et al. 1997). Dette tilsier at steroidforløpet hos de profundale hunnene sannsynligvis har et stigende forløp fra og med oktober, hvor toppnivå har vært rundt månedsskiftet november-desember. For at gytingen skal være vellykket må kjønnselleproduksjon synkroniseres mellom kjønnene ettersom moden sperma og egg har begrenset levetid (pers. med. Helge. K. Johnsen). Dette gjelder sannsynligvis også for profundalmorfene i Skogsfjordvatn. Mekanismer for synkronisering skjer gjennom atferdsmessig og sensorisk interaksjon mellom kjønnene. Hos regnbueørret skiller hunnene

sannsynligvis ut et priming-hormon som induserer endokrine responser hos hannene (Olsén & Liley 1997; Elofsson et al. 2000). Dette stimulerer til økte androgennivå med påfølgende stigning i melkeproduksjon. Hos gullfisk (*Carassius auratus*, Cyprinidae) er $17,20\beta$ -P identifisert som primer-hormon for å synkronisere ovulering og spermiering. I tillegg til å indusere endelig modning slippes hormonet ut i vannet og stimulerer økt spermieproduksjon hos hannene. Prostaglandinene som produseres under ovuleringen metaboliseres til de kan slippes i vann og fungerer som utløser-hormon på hannene, dvs. at det induserer gyteadferd (Stacey & Peter 1979; Stacey et al 1979; Sorensen et al. 1988; Peter & Yu 1997).

Samtlige måleparametere hos litoralrøye er redusert til basalnivå den 10. oktober og gonadene bestod utelukkende av nestegenerasjons-oocytter. Dette indikerer at gyting hos litoralformen normalt fullføres en gang mellom 10. september og 10. oktober, sannsynligvis rundt månedsskiftet september/oktober (Nagahama 1994; Frantzen et al. 1997).

Det ble i denne undersøkelsen ikke registrert profundale hunner som hadde gytt, men funn av store oocytter og lave E_2 nivå hos profundalrøye samplet den 9. desember indikerer at gyting var nært forestående. Et pre-ovulatorisk dropp i E_2 -nivå skjer når T når toppnivå (Frantzen et al. 1997) og signaliserer et skifte i ovarienes steroidproduksjon. Denne er under vitellogenese mediert av FSH, men stimuleres nå av LH til å produsere $17,20\beta$ -P. Dette induserer endelig modning av oocyttene (Nagahama 1994; Nagahama 1997; Frantzen 2003) og etterfølges av ovulering få dager senere (Goetz et al. 1991; Yaron & Sivan 2006). GSI hos profundalrøye i desember er mer eller mindre i samsvar med litoralrøye i september. Nivået er også i overenstemmelse med tidligere registreringer under ovulering (Frantzen et al. 1997). I oktober ble det imidlertid observert profundalrøye med høyt E_2 -nivå og korresponderende GSI og tyder på at den er i et sent stadium i vitellogenese (Specker & Sullivan 1994; Nagahama 1994). Dette indikerer at tidlige gytere forekommer før desember. Relativ gonadeinvestering varierer mellom morfer. I Thingvallavatn, Island ser planktivor og piscivor røye ut til å allokere ca. den samme mengden energi til eggproduksjon. Benthivor variant har imidlertid en lavere investering (Jonsson et al. 1988). Det er rimelig å anta at samme investeringsforhold skjer i Skogsfjordvatn.

Røye opererer sannsynligvis med et minstemål på oocytter for å sikre maksimal overlevelse hos avkommet, denne terskelen er rapportert til å være $> 3,4 - 3,8$ mm (Johnson 1980; Klemetsen et al 2003). I desember har samtlige profundalrøyer oocytter over denne størrelsen og er sammenlignbar med litoralrøye i september.

4.2 MILJØMESSIGE ÅRSAKER TIL FORSKYVING

4.2.1 FOTOPERIODE

Røye ved høye breddegrader utsettes normalt for lange perioder med konstant lys om sommeren og konstant mørke om vinteren. I likhet med laksefisk som lever ved lavere breddegrader, ser røya ut til å oppfatte og respondere på sesongmessige endringer i fotoperiode (Frantzen et al. 2004b). Den reproduktive utviklingen styres sannsynligvis av en endogen circannualsk rytme som synkroniseres av endringer i daglengde (Duston & Bromage 1986; Frantzen et al. 2004b). Økende daglengde oppfattes som et stimuli til å starte den reproduktive utviklingen, mens synkende daglengde signaliserer starten på senere stadier av gametogenese og modning (Bromage et al. 1984). Det er imidlertid verdt å legge merke til at gametogenesen hos profundalrøye gjennomføres i hovedsak i en periode med kort daglengde. Det er derfor høyst usikkert om fotoperioden har samme prinsipielle virkning på reproduksjonsutviklingen hos profundalrøye som det en ser hos normal røye (Frantzen 2003). Alternative mekanismer kan være forsinket respons eller ulik sensitivitet til fotoperiodesignal.

Pinealkjertelen og dens hovedhormon melatonin er ansett for å være involvert i den fysiologiske reguleringen av sesongmessige adaptasjoner i teleoster (Porter et al. 1998). Når de fotosensitive cellene i pinealkjertelen utsettes for lys minker produksjonen av melatonin og under mørke forhold vil produksjonen øke (Randall et al. 1995). Hormonet ser imidlertid ikke ut til å være direkte involvert i den sesongbetonte beite- og vekstrytmen hos røye. Dette er indikasjoner på at røye har en sterkere endogen komponent som regulerer appetitt og vekst sammenlignet med atlantisk laks (Aarseth et al. 2010). Røye viser også tegn til den samme reguleringen i HPG-aksen. Dette kan være adaptasjoner knyttet til sterke sesongvariasjoner i klima og mattilgjengelighet (Frantzen 2003). Reproduktiv forskyvning er sannsynligvis genetisk betinget (Jonsson & Jonsson 2001) og det kan spekuleres i om profundal røye innehar en enda sterkere endogen komponent enn litoralrøye som regulerer reproduksjonsutviklingen. Det er m.a.o. lite sannsynlig at fotoperiode er årsaken til forskyvning av gytesesongen i Skogsfjordvatn. Det har vist seg at profundal dvergrøye fra Fjellfrøsvatn opprettholder reproduktivt mønster med ovulering i februar når den tas inn i fangenskap og holdes under naturlig simulert lys- og temperaturregime (pers. med. Helge K. Johnsen). Hvorvidt profundal piscivor fra Skogsfjordvatn vil gjøre det samme er uvisst.

4.2.2 TEMPERATUR

Røya er en kuldetolerant stenotermal art hvor vekst hos juveniler inhiberes ved temperaturer over 15°C og øvre grense for dødelighet ligger rundt 20°C (Jobling et al. 1993). Oogenesen er ansett for å være det mest temperatur-sensitive stadiet i reproduksjonsutviklingen (Gerking 1979).

I Skogsfjordvatn vil profundal røye oppleve mer stabilitet i sesongmessige temperaturvariasjoner ettersom habitatet befinner seg under termoklinen. Temperaturene her vil trolig ligge rundt 4-6°C (Christensen 1994) hele året. Litoralsonen tenderer å ha større svingninger med høye temperaturer om sommeren og temperaturer ned mot frysepunktet om vinteren.

Jobling et al. 1995 påviste at røye holdt ved 4°C fra midten av juni til sent i september ovulerer tidligere enn fisk utsatt for høyere temperaturer. I realiteten bør en da forvente at profundal røye skal gyte tidligere som følger av den positive effekten lav temperatur har på reproduksjonsutviklingen. Ettersom dette ikke er tilfelle er det rimelig å anta at forskyvning av gytesesong skyldes andre faktorer enn direkte påvirkning av fysiologien fra habitatenes temperaturforskjeller. Endogene faktorer overstyrer muligens effekten temperatur har på smoltifiseringen i anadrom røye (Bottengård & Jørgensen 2008) og man kan spekulere i om dette også gjelder reproduksjonsutviklingen. Dette er spesielt aktuelt for profundalrøye som utsettes for lite temperatursvingninger i løpet av året.

4.2.3 EN RESSURSBETINGET ADAPTASJON?

En mulig forklaring på reprodutiv forskyvning kan være adaptasjon tilknyttet ressurstilgang og tilgjengelighet i forkant av gytesesongen. Den fysiologiske avgjørelsen om å kjønnsmodne er kondisjonsavhengig og relatert til veksten og akkumuleringen av nødvendige energireserver om sommeren (Sæther et al. 1996; Tveiten et al. 1996; Frantzen et al 1997; Frantzen 2003). I Skogsfjordvatn beiter litoral røye hovedsakelig på zooplankton (f. eks. *crustacea*), dvs. et lavere trofisk nivå sammenlignet med piscivor profundalrøye. Om våren starter oppblomstring av planteplankton i innsjøer som følger av fotosyntesen. Dette etterfølges av en biomasseøkning i zooplankton som igjen fungerer som føde for fisk (Persson et al. 1992). Profundal røye er m.a.o. nisjespesialisert til beiting på en ressurs som i større grad er tilgjengelig senere om våren/sommeren enn zooplanktonet litoralrøye beiter på.

En kan spekulere i om dette resulterer i utsatt oppbygging av endogene energireserver nødvendig for gyting og dermed også den reproduktive utviklingen i seg selv, dvs. at den sene kjønnsmodningen hos profundal røye kan være en ressursbetinget adaptasjon.

4.3 ØKOLOGISK BETYDNING

En reprodutiv forskyvning på i overkant av 2 måneder er ikke unormalt i sympatriske populasjoner av arktisk røye (Jonsson & Jonsson 2001). Reproduksjonsmessig interaksjon mellom morfer kan variere mellom en viss grad av paring til komplett reprodutiv isolasjon (Gislason et al. 1999). I Loch Rannoch, Skottland har benthivor og planktivor røye separert gytesesong på en måned (Adams et al. 1998) med en viss grad av overlapping. Morfene i Vangsvatnet, Norge har også overlapp mellom tid og sted for gyting (Hindar & Jonsson 1982). Mer ekstreme tilfeller er påvist i Winderemere, England (Elliot & Baroudy 1995) og i Fjellfrøsvatn, Norge (Klemetsen et al. 1997) hvor gytesesongen er forskjøvet med henholdsvis 3 og 5 måneder. Selv om det er fastslått at trofisk adaptasjon forårsaker sympatrisk artsdannelse er kunnskapsgrunnlaget om fysiologiske forskjeller mellom morfer er særdeles lite utarbeidet, dette gjelder spesielt med hensyn på reproduksjonsbiologi og hvorfor en reprodutiv syklus forskyves (Jonsson & Jonsson 2001).

4.3.1 REPRODUKTIV ISOLASJON I SKOGSFJORDVATN?

Separasjonen i Skogsfjordvatnet er ikke like stor som i Fjellfrøsvatn. Ut i fra analysene av prøvematerialet er det imidlertid ingen tegn på overlapping mellom hunner ettersom samtlige litoralrøyer har fullført gyting før profundalrøye er kjønnsmoden. Dette er en sterk indikasjon på temporal reprodutiv isolasjon (Mayr 1970). Interaksjoner mellom profundale hanner og litorale hunner kan imidlertid ha funnet sted i september. Dette pga. forhøyede 11-KT konsentrasjoner hos enkelte individer før vitellogene profundalhunner ble observert. I Vangsvatnet, Norge er det rapportert at kjønnsmoden profundal dvergrøye imiterer normalrøye under gytesesongen for så å snikbefrukke eggene (Jonsson & Hindar 1982). Det er imidlertid usikkert om piscivor profundalrøye har adaptert en slik strategi.

Det at morfene gyter i sitt foretrukne habitat understøtter en teori om reprodutiv isolasjon i Skogsfjordvatn, dvs. at det foregår en økologisk isolasjon hvor morfene ikke møtes (Mayr 1970). Den mest vanlige divergensen skjer langs den epipelagisk-litorale (ofte termet som

limnetisk-bentisk) aksen (Knudsen et al. 2006). Det er sjelden at morfer er fullstendig begrenset til den profundale sonen som i Fjellfrøsvatn (Klemetsen et al. 1997) og sannsynligvis i Skogsfjordvatn.

Selektiv gyting og trofisk adaptasjon er ansett som hovedårsaken til reprodutiv isolasjon mellom sympatriske morfer. Morfologisk like individer tiltrekkes av hverandre og hybridavkom er underlegen i konkurransen med mer spesialiserte individer (Jonsson & Jonsson 2001). Det er rimelig å anta at morfene i Skogsfjordvatn også vil foretrekke hverandre som gytepartnere, dette er kjent som adferdsmessig isolasjon (Mayr 1970). Morfologiens diversitet i sympatriske morfer reflekterer deres livsstrategi med hensyn på ressursinndeling, hodeform og kroppsfasong avgjør hvor effektivt fisk kan ernære seg på ulike byttedyr (Werner 1977). F. eks. har zooplanktivore morfer en mer strømlinjeformet kropp og tynnere beinstruktur i kranium og kjeve. Piscivore morfer, som den i Skogsfjordvatn, kjennetegnes ved tyngre beinstrukturer i hodet (Walker et al. 1988; Jonsson & Jonsson 2001). Disse spesialiseringene har sannsynligvis oppstått fra konkurranse innad i arten (Robinson & Wilson 1994).

Det bør merkes at reprodutiv isolasjon er ikke absolutt. Det kan være et forbigående fenomen hvor f. eks. miljøendringer forstyrrer gyteområdet for en av morfene og resulterer i introgresjon (Turner 1999; Jonsson & Jonsson 2001). Likevel kan det være forløperen til økologisk artsdannelse (Jonsson & Jonsson 2001). Sannsynligvis må morfene i Skogsfjordvatn undersøkes nærmere før man kan bekrefte om de er reprodutivt isolert.

4.3.2 KONSEKVENNS AV EN SENERE REPRODUKSJONSUTVIKLING

Uavhengig av hvilken reprodutiv strategi er målet for en organisme å maksimere reprodutiv suksess og dermed egnethet (fitness), dvs. antall overlevende den kan produsere relativt til andre individer. Dette er underlagt betingelser satt av fylogeni, utvikling, genetikk og stokastiske miljø (Fleming 1996). Forskjøvet reprodutiv utvikling hos profundal røye er sannsynligvis et kompromiss i forholdet mellom fordel og kostnad som sikrer maksimal overlevelse hos avkommet innenfor miljøet de lever i.

Tidspunkt for gyting hos fisk er nært assosiert med eggenes inkubasjonstid og primærproduksjon. Primærproduksjon er en forutsetning for sekundærproduksjon og dermed næringsgrunnlaget for ungfisk. For å sikre maksimal overlevelse er det viktig at eggene klekkes når næringsgrunnlaget er mest mulig tilgjengelig og stabilt (Bagenal 1971). Dette er

også tilfelle hos røye som gyter om høsten, hvor eggene klekkes om våren (Johnson 1980; Jobling et al. 1998).

En viktig forskjell mellom litoral og profundal røye er temperaturforskjellen i habitatene hvor eggene inkuberes. Som nevnt ligger temperaturen trolig stabilt rundt 4-6°C under termoklinen hvor profundal røye har gytegrøpene. Egg som inkuberes på grunnere vann i den litorale sonen vil utsettes for kaldere temperaturer gjennom vinteren (Jobling et al. 1998). Temperatur har sterk innvirkning på inkubasjonstiden i røyeegg. En økning fra 4 til 8 °C er påvist å nesten halvere inkubasjonstiden fra 96,7±1,0 til 53,7±0,3 dager, en negativ utvikling i temperatur øker følgelig tiden for inkubering (Johnson 1980).

For røye i Skogsfjordvatn betyr sannsynligvis dette at egg fra den profundale populasjonen har en kortere inkubasjonstid enn litorale egg. Det kan spekuleres i om dette kompenserer for sen gyting og fører til at egg fra begge populasjonene klekkes rundt samme tidspunkt. Klekking av profundale egg i vinduet når næringsoppblomstringen er størst kan dermed være med på å sikre avkommenes overlevelse. Det fins imidlertid lite kunnskap om hva ung røye beiter på, spesielt ved det kritiske tidlige alevinstadiet og utover den første sommeren. Hovedårsakene til dette er at fisk av så liten størrelse er vanskelig å sample i innsjøer (Johnson 1980; Klemetsen et al. 2003). Inkubering av egg ved høyere temperaturer har vist seg å påvirke klekkesuksess og eggenes levedyktighet i negativ retning (Gillet 1994; de March 1995; Jobling et al. 1998). En inkubasjonstemperatur over 8 °C har resultert i svært høy dødelighet, mens temperaturer over 12°C kan føre til total dødelighet (Swift 1965). Det er ukjent om profundal røye kompenserer for dette ved å f. eks ha en høyere potensiell fekunditet (Hunter et al. 1992).

4.3.3 FORVALTNING AV SYMPATRISKE POPULASJONER

Ettersom diversiteten i sympatriske morfer er såpass ulik mhp. ressurstnyttelse, livsstrategi og temporal-/spatial reproduksjon, bør de forvaltes som separate arter (Hindar & Jonsson 1982; Jonsson & Jonsson 2001). Miljømessige faktorer som påvirker et spesifikt habitat, eller til en viss tid, kan ramme hver morf på forskjellig måte. For å opprettholde mangfoldet i polymorfiske røyepopulasjoner må de økologiske nisjene hos alle morfer være bærekraftig. Dette gjelder næringstilgang, gyteområde og vannkvalitet i alle deler av habitatet (Jonsson & Jonsson 2001).

5.0 KONKLUSJON

Analyse av steroide kjønns hormoner i blodplasma og undersøkelser av gonader utover en gytesesong tilsier at profundal piscivor røye i Skogsfjordvatn forskyver den reproduktive utviklingen med ca. 2 måneder sammenlignet normal litoral røye.

Årsakene til dette er uklare og trolig ikke assosiert med miljømessige signal som fotoperiode og temperatur. Forskyvingen hos profundalrøye er sannsynligvis genetisk betinget og kan skyldes innflytelsen av en sterk endogen komponent.

De temporale forskjellene uten klare overlapp i gytetidspunkt kan indikere at morfene er reproduktivt isolert. Dette understøttes av separerte gytehabitat og morfologiske forskjeller. Spørsmålet er fremdeles åpent og mer forskning bør gjøres før en konklusjon foreligger.

Pga. temperaturforskjeller i habitatene har profundale egg sannsynligvis en kortere inkubasjonstid enn litorale egg. Dette kan kompensere for sen gyting og sikre avkommets overlevelse ved at eggene klekkes når næringsgrunnlaget er størst.

REFERANSER

- Aarseth, J.J., Frøiland, E., Jørgensen, E.H. (2010). Melatonin implantation during spring and summer does not affect the seasonal rhythm of feeding in anadromous Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Polar Biol.* **33**: 379-388.
- Adams, C.E., Fraser, D., Huntingford, F.A., Greer, R.B., Askew, C.M., Walker, A.F. (1998). Trophic polymorphism amongst Arctic charr from Loch Rannoch, Scotland. *Journal of Fish Biology.* **52**: 1259-1271.
- Bagenal, T.B. (1971). The interrelation of the size of the fish eggs, the date of spawning and the production cycle. *Journal of Fish Biology.* **3**: 207-219.
- Baynes, S.M., Scott, A.P. (1985). Seasonal variations in parameters of milt production and in plasma concentration of sex steroids of male rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *General and comparative endocrinology.* **57**: 150-160.
- Behnke, R.J. (1972). The systematics of salmonid fishes of recently glaciated lakes. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada.* **29**: 639-671.
- Bergersen, R., Klemetsen, A. (1988). Freshwater eel, *Anguilla anguilla* (L.) from North Norway, with emphasis on occurrence, food, age and downstream migration. *Nordic Journal of Freshwater Research.* **64**: 54-66.
- Borg, B. (1994). Androgens in telost fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology.* **109C**: 219-245.
- Bottengård, L., Jørgensen, E.H. (2008). Elevated spring temperature stimulates growth, but not smolt development in anadromous Arctic charr. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology.* **151**: 596-601.
- Bromage, N.R., Elliot, J.A., Springate, J.R.C., Whitehead, C. (1984). The effects of constant photoperiods on the timing of spawning in the rainbow trout. *Aquaculture.* **43**: 213-223.
- Brooks, S., Tyler, C.R., Sumpter, J.P. (1997). Egg quality of fish: what makes a good egg?. *Reviews in Fish Biology and Fisheries.* **7**: 387-416.
- Bush, G.L. (1975). Modes of animal speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics.* **6**: 339-364.
- Christensen, G.N. (1994). *Selektiv predasjon hos pelagisk røye, Salvelinus alpinus* (L.) i Skogsfjordvannet, en oligotrof innsjø i Nord-Norge. Hovedfagsoppgave (Cand. Scient.) i akvatisk biologi/ferskvannsbiologi ved Norges Fiskerihøgskole, Universitetet i Tromsø.
- Cowey, C.B., Bell, J.G., Knox, D., Fraser, A., Youngston, A. (1985). Lipids and lipid antioxidant systems in developing eggs of salmon (*Salmo salar*). *Lipids.* **20**: 567-572.
- Devlin, R.H., Nagahama, Y. (2002). Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture.* **208**: 191-364.
- Duston, J., Bromage, N.R. (1986). Photoperiodic mechanisms and rhythms of reproduction in the female rainbow trout. *Fish Physiol. Biochem.* **2**: 35-51.
- Dutil, J.-D. (1986). Energetic constraints and spawning interval in the anadromous Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Copeia.* **1986(4)**: 945-955.
- Elofsson, U.O.E., Mayer, I., Damsgård, B., Winberg, S. (2000). Intermale competition in sexually mature Arctic charr: Effects on brain monoamines, endocrine stress responses, sex hormone levels, and behaviour. *General and Comparative Endocrinology.* **118**: 450-460.
- Elliot, J.M., Baroudy, E. (1995). The ecology of Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, and brown trout, *Salmo trutta*, in Windemere (northwest England). *Nordic Journal of Freshwater Research.* **71**: 33-48.

- Fleming, I.A. (1996). Reproductive strategies of Atlantic salmon: Ecology and evolution. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. **6**: 379-416.
- Fostier, A., Jalabert, B., Billard, R., Breton, B., Zohar, Y. (1983). The gonadal steroidogenesis. I: Hoar, W.S., Randall, D.J., Donaldson, E.M. (red.). *Fish Physiology, Vol. IXA*. Academic Press, New York. 277-372.
- Frantzen, M. (2003). *Control of reproduction in salmonids – experimental studies on Arctic charr*. Dr. Scient. Thesis. Department of Aquatic BioScience, Norwegian College of Fishery Science. University of Tromsø, Norway.
- Frantzen, M., Johnsen, H.K., Mayer, I. (1997). Gonadal development and sex steroids in a female Arctic charr broodstock. *Journal of Fish Biology*. **51**: 697-709.
- Frantzen, M., Damsgård, B., Tveiten, H., Moriyama, S., Iwata, M., Johnsen, H.K. (2004a). Effects of fasting on temporal changes in plasma concentrations of sex steroids, growth hormone and insulin-like growth factor I, and reproductive investment in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Journal of Fish Biology*. **65**: 1526-1542.
- Frantzen, M., Arnesen, A.M., Damsgård, B., Tveiten, H., Johnsen, H.K. (2004b). Effects of photoperiod on sex steroids and gonad maturation in Arctic charr. *Aquaculture*. **240**: 561-574.
- Gerking, S.D. (1979). Fish reproduction and stress. I: Ali, M.A. (red.). *Environmental Physiology of Fishes*. Plenum, New York. 569-587.
- Gillet, C. (1994). Egg production in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) broodstock: effects of photoperiod on timing of ovulation and egg quality. *Canadian Journal of Zoology*. **72**: 334-338.
- Gislason, D., Ferguson, M., Skúlason, S., Snorrason, S.S. (1999). Rapid and coupled phenotypic and genetic divergence in Icelandic Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **56**: 2229-2234.
- Goetz, F.W., Berndtson, A.K., Ranjan, M. (1991). Ovulation: mediators at the ovarian level. I: Pang, P.K.T., Schreiber, M.P. (red.). *Vertebrate Endocrinology: Fundamentals and Biomedical Implications*. Academic Press, Inc. San Diego. 127-203.
- Grier, H.J., Linton, J.R., Leatherland, J.F., de Vlaming, V.L. (1980). Structural evidence for two different testicular types in teleost fishes. *Am. J. Anat.* **159**: 331-345.
- Hesthagen, T., Hindar, K., Jonsson, B. (1995). Effects of acidification on normal and dwarf Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) in a Norwegian lake. *Biological Conservation*. **74**: 115-123.
- Hindar, K., Jonsson, B. (1982). Habitat and food segregation of dwarf and normal Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) from Vangsvatnet lake, western Norway. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **39**: 1030-1045.
- Hindar, K. (1986). Allele frequency variation at the EST-2 locus in Arctic charr: Is it clinal? *Hereditas*. **105**: 23-27.
- Hindar, K., Jonsson, B. (1993). Ecological polymorphism in Arctic charr. *Biological Journal of the Linnean Society*. **48**: 63-74.
- Hunter, J.R., Macewicz, B.J., Lo, N.C.H., Kimbrell, C.A. (1992). Fecundity, spawning and maturity of female Dover Sole, *Microstomus pacificus*, with an evaluation of assumptions and precision. *Fish. Bull., U.S.* **90**: 101-128.
- Jobling, M., Jørgensen, E.H., Arnesen, A.M., Ringø, E. (1993). Feeding growth and environmental requirements of Arctic charr: A review of aquaculture potential. *Aquaculture international*. **1**: 20-46.
- Jobling, M., Johnsen, H.K., Pettersen, G.W., Henderson, R.J. (1995). Effect of temperature on reproductive development in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). *J. Therm. Biol.* **20**: 157-165.

- Jobling, M., Tveiten, H., Hatlen, B. (1998). Cultivation of Arctic charr: an update. *Aquaculture International*. **6**: 181-196.
- Johnson, L. (1980). The arctic charr, *Salvelinus alpinus*. I: Balon, E. K. (red). *Charrs. Salmonid fishes of the genus Salvelinus*. Vol 1. Dr. W. Junk. The Hague. 15-98.
- Johnson, P.A., Gullberg, U. (1998). Theory and models of sympatric speciation. I: Howard, D.J., Berlocher, S.H. (red). *Endless Forms: Species and Speciation*. Oxford University Press. New York, NY. 79-89.
- Jonsson, B., Hindar, K. (1982). Reproductive strategy of dwarf and normal Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) from Vangsvatnet Lake, Western Norway. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **39**: 1404-1413.
- Jonsson, B., Skúlason, S., Snorrason, S.S., Sandlund, O.T., Malmquist, H.J., Jónasson, P.M., Gydemo, R., Lindem, T. (1988). Life history variation of polymorphic Arctic charr in Thingvallavatn, Iceland. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **45**: 1537-1547.
- Jonsson, B., Jonsson, N. (2001). Polymorphism and speciation in Arctic charr. *Journal of Fish Biology*. **58**: 605-638.
- Jørgensen, E.H., Johansen, S.J.S., Jobling, M. (1997). Seasonal patterns of growth, lipid deposition and lipid depletion in anadromous arctic charr. *Journal of Fish Biology*. **51**: 312-326.
- Kadri, S., Metcalfe, N.B., Huntingford, F.A., Thorpe, J.E. (1995). What controls the onset of anorexia in maturing adult female Atlantic salmon? *Functional Ecology*. **9**: 315-329.
- Klemetsen, A. (2010). The charr problem revisited: exceptional phenotypic plasticity promotes ecological speciation in postglacial lakes. *Freshwater Reviews*. **3**: 49-74.
- Klemetsen, A., Amundsen, P.-A., Muladal, H., Rubach, S., Solbakken, J.I. (1989). Habitat shifts in a dense, resident Arctic charr *Salvelinus alpinus* population. *Physiology and Ecology Japan*. **1**: 187-200.
- Klemetsen, A., Amundsen, P.-A., Knudsen, R., Hermansen, B. (1997). A profundal winter-spawning morph of arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) in lake Fjellfrøsvatn, Northern Norway. *Nordic J. Freshwater Res.* **73**: 13-23.
- Klemetsen, A., Amundsen, P.-A., Dempson, J.B., Jonsson, B., Jonsson, M., O'Connell, M.F., Mortensen, E. (2003). Atlantic salmon *Salmo salar* L., brown trout *Salmo trutta* L. And Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.): a review of aspects in their life histories. *Ecology of Freshwater Fish*. **12**: 1-59.
- Knudsen, R., Klemetsen, A., Amundsen, P.-A., Hermansen, B. (2006). Incipient speciation through niche expansion: an example from the Arctic charr in a subarctic lake. *Proceedings of the Royal Society*. **273**: 2291-2298.
- Kristianslund, I. (1985). *Innføring i Statistikk*. Bedriftsøkonomenes forlag, Oslo. 375-377.
- Lawrence, E. (2008). *Henderson's Dictionary of Biology*. Pearson Education Limited. Essex. England. 627.
- de March, B.G.E. (1995). Effects of incubation temperature on the hatching success of Arctic charr eggs. *The Progressive Fish-Culturist*. **57**: 132-136.
- Mayr, E. (1970). *Populations, Species, and Evolution*. Harvard University Press. Cambridge, Mass.
- Määr, A. (1949). Fertility of char (*Salmo alpinus* L.) in the Fäxälven water system, Sweden. *Report of the institute of Freshwater Research, Drottningholm*. **29**: 57-70.
- Nagahama, Y. (1983). The functional morphology of teleost gonads. I: Hoar, W.S., Randall, D.J., Donaldson, E.M. (red). *Fish Physiology*. Vol IXA. Academic Press, New York. 223-275.
- Nagahama, Y. (1994). Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *Int. J. Dev. Biol.* **38**: 217-229.

- Nagahama, Y. (1997). $17\alpha,20\beta$ -Dihydroxy-4-pregnen-3-one, a maturation inducing hormone in fish oocytes: Mechanisms of synthesis and action. *Steroids*. **62**: 190-196.
- Nagahama, Y., Miura, T., Kobayashi, T. (1994). The onset of spermatogenesis in fish. I: Marsh, J., Goode, J. (red). *Germline Development, Ciba Foundation Symposium 182*. John Wiley & Sons Ltd. Baffins lane, Chichester. 255-269.
- Nordeng, H. (1983). Solution to the "char problem" based on the Arctic char (*Salvelinus alpinus*) in Norway. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **40**: 1372-1387.
- Olsén, K.H., Liley, N.R. (1993). The significance of olfaction and social cues in milt availability, sexual hormone status, and spawning behaviour of male Rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *General and Comparative Endocrinology*. **89**: 107-118.
- Patiño, R., Sullivan, C.V. (2002). Ovarian follicle growth, maturation and ovulation in teleost fish. *Fish Physiology and Biochemistry*. **26**: 57-70.
- Persson, L., Diehl, S., Johansson, L., Andersson, G., Hamrin, S.F. (1992). Trophic interactions in temperate lake ecosystems: A test of food chain theory. *The American Naturalist*. **140**: 59-84.
- Peter, R.E., Yu, K.L. (1997). Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. **7**: 173-197.
- Porter, M.J.R., Randall, C.F., Bromage, N.R., Thorpe, J.E. (1998). The role of melatonin and the pineal gland on the development and smoltification of Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr. *Aquaculture*. **168**: 139-155.
- Randall, C.F., Bromage, N.R., Thorpe, J.E., Miles, M.S., Miur, J.S. (1995). Melatonin rhythms in Atlantic salmon (*Salmo salar*) maintained under natural and out-of-phase photoperiods. *Gen Comp Endocrinol*. **98**: 73-86.
- Rikardsen, A.H., Amundsen, P.-A., Bjørn, P.A., Johansen, M. (2000). Comparison of growth, diet and food consumption of sea-run and lake dwelling Arctic charr. *Journal of Fish Biology*. **57**: 1172-1188.
- Rikardsen, A.H., Thorpe, J.E., Dempson, J.B. (2004). Modelling the life-history variation of Arctic charr. *Ecology of Freshwater Fish*. **13**: 305-311.
- Robinson, B.W., Wilson, D.S. (1994). Character release and displacement in fishes: a neglected literature. *American Naturalist*. **144**: 596-627.
- Rowe, D.K., Thorpe, J.E., Shanks, A.M. (1991). Role of fat stores in the maturation of male atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **48**: 405-413.
- Sargent, J.R., Henderson, R.J., Tocher, D.R. (1989). The lipids. I: *Fish Nutrition*. (red.). Halver, J.E. Academic Press, London. 153-218.
- Savvaitova, K.A. (1995). Patterns of diversity and processes of speciation in Arctic charr. *Nordic Journal of Freshwater Research*. **71**: 81-91.
- Schluter, D. (2000). *The Ecology of Adaptive Radiation*. Oxford University Press. Oxford, UK.
- Schluter, D. (2001). Ecology and the origin of species. *Trends in Ecology & Evolution*. **16**: 372-380.
- Schulz, R. (1985) Measurement of five androgens in the blood of immature and maturing male rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Richardson). *Steroids*. **46**: 717-726.
- Schulz, R.W., Miura, T. (2002). Spermatogenesis and its endocrine regulation. *Fish. Physiol. Biochem.* **26**: 43-56.
- Scott, D.B.C. (1979). Environmental timing and the control of reproduction in teleost fish. *Symposium of the Zoological Society of London*. **44**: 105-132.

- Sorensen, P.W., Hara, T.J., Stacey, N.E., Goetz, F.W. (1988). F prostaglandines function as potent olfactory stimulants that compromise the postovulatory female sex feromone in goldfish. *Biol. Reprod.* **39**: 1039-1050.
- Specker, J.L., Sullivan, C.V. (1994). Vitellogenesis in fishes: status and perspectives. I: Davey, K.G., Peter, R.E., Tobe, S.S. (red). *Perspectives in Comparative Endocrinology*. National Research Council of Canada. Ottawa. 304-315.
- Stacey, N.E., Peter, R.E. (1979). Central action of prostaglandins in spawning behaviour of female goldfish. *Physiol. Behav.* **22**: 1191-1196.
- Stacey, N.E., Cook, A.F., Peter, R.E. (1979). Ovulatory surge of gonadotropin in the goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **37**: 246-249.
- Strand, J.E.T., Aarseth, J.J., Hanebrekke, T.L., Jørgensen, E.H. (2008). Keeping track of time under ice and snow in a sub-arctic lake: plasma melatonin rythms in Arctic charr overwintering under natural conditions. *J. Pineal Res.* **44**: 227-233.
- Sumpter, J.P., Scott, A.P., Baynes, S.M., Witthames, P.R. (1984). Early stages of the reproductive cycle in virgin female rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture.* **43**: 235-242.
- Svenning, M. -A., Gullestad, N. (2002). Adaptions to stochastic environmental variations: the effects of seasonal temperatures on the migratory window of Svalbard Arctic charr. *Environmental Biology of Fishes.* **64 (1-3)**: 165-174.
- Svenning, M.-A., Klemetsen, A., Olsen, T. (2007). Habitat and food choice of Arctic charr in Linne'vatn on Spitsbergen, Svalbard: the first year-round investigation in a High Arctic lake. *Ecology of Freshwater Fish.* **16**: 70-77.
- Swift, D.R. (1965). Effect of temperatur eon mortality and rate of development of the eggs of the Windermere Char (*Salvelinus alpinus*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada.* **22(4)**: 913-917.
- Sæther, B.S., Johnsen, H.K., Jobling, M. (1996). Seasonal changes in food consumption and growth of Arctic charr exposed to either simulated natural or a 12:12 LD photoperiod at constant water temperature. *Journal of Fish Biology.* **48**: 1113-1122.
- Turner, G.F. (1999). What is a fish? *Reviews in Fish Biology and Fisheries.* **9**: 281-297.
- Tveiten, H., Johnsen, H.K., Jobling, M. (1996). Influence of maturity status on the annual cycles of feeding and growth in Arctic charr reared at constant temperature. *Journal of Fish Biology.* **48**: 910-924.
- Tveiten, H., Mayer, I., Johnsen, H.K., Jobling, M. (1998). Sex steroids, growth and condition of Arctic charr broodstock, during an annual cycle. *Journal of Fish Biology.* **53**: 714-727.
- Tveiten, H., Bjørn, P.A., Johnsen, H.K., Finstad, B., McKinley, R.S. (2010). Effects of the sea louse *Lepeophtheirus salmonis* on temporal changes in cortisol, sex steroids, growth and reproductive investment in Arctic charr *Salvelinus alpinus*. *Journal of Fish Biology.* **76**: 2318-2341.
- Tyler, C.R., Sumpter, J.P. (1996). Oocyte growth and development in teleosts. *Rev. Fish Biol. Fish.* **6**: 287-318.
- Urano, A., Anda, H., Ueda, H. (1999). Molecular neuroendocrine basis of spawning migration in salmon. I: Kwon, H.B., Joss, J.M.P., Ishi, S. (red). *Recent Progress in Molecular and Comparative Endocrinology*, Horm. Res. Center. Kwangju, Korea. 46-56.
- Walker, A.F., Greer, R.B., Gardner, A.S. (1988). Two ecologically distinct forms of Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) in Loch Rannoch, Scotland. *Biological Conservation.* **43**: 43-61.
- Wallace, J.C., Aasjord, D. (1984). The initial feeding of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) alevins at different temperatures under different feeding regimes. *Aquaculture.* **38**: 19-33.

- Wallace, R.A., Selman, K. (1981). Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *American Zoologist*. **21**: 325-343.
- Wallace, R.A., Selman, K. (1990). Ultrastructural aspects of oogenesis and oocyte growth in fish and amphibians. *J. Electron Microsc Tech.* **16**: 175-201.
- Weltzien, F.A., Norberg, B., Swanson, P. (2003). Isolation and characterization of FSH and LH from pituitary glands of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus L.*) *General and Comparative Endocrinology*. **131**: 97-105.
- Werner, E.E. (1977). Species packing and niche complementarity in three sunfishes. *American Naturalist*. **111**: 553-578.
- Westgaard, J.I., Klemetsen, A., Knudsen, R. (2004). Genetic differences between two sympatric morphs of Arctic charr confirmed by microsatellite DNA. *Journal of Fish Biology*. **65**: 1185-1191.
- Wiegand, M.D. (1996). Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. **6**: 259-286.
- Yaron, Z., Sivan, B. (2006). Reproduction. I: Evans, D.H., Claiborne, J.B. (red.). *The Physiology of Fishes*. 3rd ed. CRC Press. Boca Raton, FL. 344-373. 3rd. ed. CRC Press.

VEDLEGG

VEDLEGG 1

Hunnfisk som inngikk i forsøket. Viser dato for sampling, løpenr., populasjonstilhørighet (litoral: NN, profundal: PP (også markert i grått)), steroidnivå, GSI og oocyttdiameter ved sampling.

Dato	Id.nr	E ₂ (ng/ml)	Pop.	GSI (%)	Oocyttdiameter (mm)
09.aug	1	6,17	NN	6,80	3,070
09.aug	2	4,26	NN	7,27	-
09.aug	3	6,82	NN	6,11	-
09.aug	5	5,94	NN	5,24	-
09.aug	8	14,86	NN	6,20	-
09.aug	9	59,89	NN	3,36	-
09.aug	11	23,41	NN	7,62	3,620
09.aug	12	32,98	NN	3,05	-
09.aug	14	1,07	PP	2,03	-
09.aug	18	4,63	PP	3,35	-
09.aug	22	5,29	NN	5,68	-
09.aug	23	14,15	NN	6,02	-
12.sep	26	7,43	NN	12,90	4,358
12.sep	27	1,23	NN	0,75	0,782
12.sep	28	1,04	PP	0,78	0,454
12.sep	29	2,37	NN	0,79	0,887
12.sep	30	19,84	NN	14,06	4,558
12.sep	31	19,47	NN	15,71	4,587
12.sep	33	36,97	NN	12,32	4,425
12.sep	35	35,61	NN	15,55	4,191
12.sep	39	9,69	NN	9,83	4,191
10.okt	48	1,50	PP	0,51	1,225
10.okt	50	1,41	NN	0,56	-
10.okt	53	15,12	PP	14,75	-
10.okt	57	1,39	PP	1,00	1,093
10.okt	58	1,58	NN	1,31	-
10.okt	59	1,21	NN	0,67	0,925
10.okt	61	1,52	NN	0,92	-
10.okt	62	1,59	NN	1,14	0,910
10.okt	63	1,81	NN	1,70	-
10.okt	66	1,57	NN	2,05	0,877
10.okt	67	2,29	NN	1,25	1,196
10.okt	70	1,71	NN	1,09	-
10.okt	77	1,32	PP	0,42	-
10.okt	80	2,00	NN	1,09	0,771
10.okt	81	1,90	NN	1,05	0,840

10.okt	82	2,08	NN	0,80	0,870
10.okt	83	2,34	NN	1,24	1,225
10.okt	84	0,75	NN	0,66	0,936
10.okt	86	1,78	NN	1,11	0,663
10.okt	88	1,49	NN	1,40	1,043
10.okt	89	4,36	NN	1,39	1,105
10.nov	90	2,00	NN	0,92	1,046
10.nov	91	1,77	NN	1,26	1,088
10.nov	92	1,25	NN	0,88	1,011
10.nov	96	1,39	PP	0,70	1,037
10.nov	98	2,60	PP	17,71	4,850
10.nov	101	2,85	NN	0,89	1,155
10.nov	103	1,86	NN	0,88	1,111
10.nov	104	1,77	NN	1,48	1,034
10.nov	105	3,01	NN	0,68	1,053
10.nov	106	3,84	NN	1,45	1,023
10.nov	107	2,12	NN	0,95	1,125
10.nov	109	1,23	NN	1,16	1,107
10.nov	110	1,20	NN	0,97	0,966
10.nov	111	1,39	NN	1,12	1,038
10.nov	112	2,70	NN	1,09	0,904
10.nov	114	1,74	NN	1,73	0,913
20.nov	117	14,50	PP	7,06	3,631
20.nov	121	2,73	PP	11,76	4,493
09.des	128	0,33	NN	0,64	-
09.des	129	1,11	PP	18,53	4,716
09.des	130	1,23	PP	14,36	4,704
09.des	133	0,50	NN	0,38	0,654
09.des	134	0,62	NN	0,59	0,674
09.des	136	0,68	NN	1,02	0,721

* + To profundale hunner fra 9. desember; GSI: 14,37% og 16,51%. Oocyttdiameter: 4,670 og 4,930 mm.

VEDLEGG 2

Hanfisk som inngikk i forsøket. Viser dato for sampling, løpenr., populasjonstilhørighet (NN: litoral, PP: profundal (også markert i grått)) og steroidnivå.

Dato	Id.nr	Pop.	11-KT (ng/ml)
09.aug	4	NN	11,02
09.aug	6	NN	5,64
09.aug	7	NN	3,36
09.aug	10	NN	13,18
09.aug	13	PP	3,26
09.aug	15	PP	4,73
09.aug	16	PP	2,78
09.aug	17	PP	2,04
09.aug	19	PP	3,71
09.aug	20	PP	2,13
09.aug	21	PP	2,06
09.aug	24	NN	3,70
12.sep	25	PP	28,69
12.sep	32	PP	1,83
12.sep	34	NN	50,41
12.sep	36	PP	2,20
12.sep	37	NN	14,93
12.sep	38	PP	15,17
12.sep	40	NN	31,23
12.sep	41	NN	12,80
12.sep	42	NN	26,53
12.sep	43	NN	12,61
12.sep	44	NN	55,64
12.sep	45	NN	52,32
12.sep	46	NN	28,40
10.okt	47	PP	43,52
10.okt	49	PP	2,59
10.okt	51	PP	3,34
10.okt	52	PP	47,56
10.okt	54	PP	37,12
10.okt	55	PP	30,79
10.okt	56	PP	35,34
10.okt	60	NN	5,46
10.okt	64	NN	3,23
10.okt	65	NN	1,22
10.okt	68	NN	5,71
10.okt	69	NN	2,17
10.okt	71	NN	6,66
10.okt	72	PP	36,25
10.okt	73	PP	27,51

10.okt	74	PP	40,97
10.okt	75	PP	29,34
10.okt	76	PP	3,65
10.okt	78	PP	32,10
10.okt	79	PP	53,47
10.nov	85	NN	1,58
10.nov	87	NN	3,65
10.nov	93	NN	6,05
10.nov	94	NN	0,62
10.nov	95	PP	12,06
10.nov	97	PP	2,37
10.nov	99	PP	14,65
10.nov	100	NN	0,50
10.nov	102	NN	0,55
10.nov	108	NN	-
10.nov	113	NN	0,58
20.nov	115	PP	22,91
20.nov	116	PP	32,86
20.nov	118	PP	42,70
20.nov	119	PP	27,72
20.nov	120	PP	29,32
20.nov	122	PP	57,40
20.nov	123	PP	26,97
20.nov	124	PP	28,84
20.nov	125	PP	48,82
09.des	126	NN	1,01
09.des	127	NN	1,61
09.des	131	PP	1,12
09.des	132	PP	0,54
09.des	137	NN	0,43
09.des	138	NN	0,62

