



Flodkräftan i sjön Vrången

- möjliga orsaker till ett kräftbestånds nedgång
och fall i ett Natura 2000-område



■ Flodkräfta i sjön Vrången

- möjliga orsaker till ett kräftbestånds nedgång
och fall i ett Natura 2000-område

Meddelande	nr 2011:02
Referens	Per Nyström & Marika Stenberg, Ekoll HB, januari 2011
Kontaktperson	Anton Halldén Länsstyrelsen i Jönköpings län, Direkttelefon 036-39 50 62, e-post anton.hallden@lansstyrelsen.se
Webbplats	www.lansstyrelsen.se/jonkoping
Fotografier	Marika Stenberg & Per Nyström
Kartmaterial	Används flera lantmäteri-produkter-produkter © Lantmäteriet 2007. Ur GSD-produkter ärende 106-2004/ 188F
ISSN	1101-9425
ISRN	LSTY-F-M—11/02SE
Upplaga	65 exemplar.
Tryckt på	Tryckt på Länsstyrelsen, Jönköping 2011
Miljö och återvinning	Rapporten är tryckt på miljömärkt papper och omslaget består av PET-plast, kartong, bomullsväv och miljömärkt lim. Vid återvinning tas omslaget bort och sorteras som brännbart avfall, rapportsidorna sorteras som papper.

© Länsstyrelsen i Jönköpings län 2011

Förord

Flodkräftan för idag en tynande tillvaro i våra vatten på såväl nationell som regional nivå. Årligen påträffas nya bestånd av signalkräfta som i dagsläget står för det största hotet mot vår inhemska kräfta. Denna rapport handlar om sjön Vrången på småländska höglandet inom Emåns avrinningsområde, Eksjö kommun.

Vrångens ursprungliga bestånd av flodkräfta slogs ut till följd av kräftpest 1934. Ett flertal utsättningar ägde därför rum mellan åren 1946-1961 som resulterade i ett stort och stabilt bestånd av arten fram till 1990. Under 1992-2006 genomfördes kräftprovfisken i Vrången som visade på ett kraftigt minskande bestånd av flodkräfta. Motsvarande utveckling noterades även för flera andra bestånd av flodkräfta i Jönkings län under samma tidsperiod. Den tydliga tillbakagången var oroväckande, varför de mycket skickliga kräftexperterna på konsultbolaget Ekoll HB fick i uppdrag av Länsstyrelsen i Jönköpings län att genomföra en utredning i syfte att identifiera eventuella orsaker. Arbetet har hela tiden skett i nära samarbete med fiskevårdsområdet som varit positiva till försöken med att restaurera beståndet av flodkräfta.

Utökade provfisken, vattenprovtagning, sumpning och kläckningsförsök på flodkräftor genomfördes i sjön mellan 2000 och 2008. Även analyser med avseende på kräftpest och andra sjukdomar genomfördes. Analyssvaren indikerade ingen förekomst av kräftpest. Det senaste kräftprovfisket skedde 2008 vilket helt plötsligt resulterade i en fångst av signalkräfta. Försöken avbröts därför och sjön klassas idag som en signalkräftsjö utan möjlighet att få tillbaka den ursprungliga flodkräftan.

Föreliggande rapport som består av tre på varandra följande delar redovisar resultatet från utredningarna av flodkräftbeståndet i sjön Vrången. Olyckligtvis hann beståndet av flodkräfta försvinna helt under arbetets gång varför svaret på frågan om vad som orsakade flodkräftans tillbakagång under slutet av 1990-talet och början av 2000-talet sannolikt kommer att förbli obesvarad.

Flera av de metoder som använts i utredningen är nya och innovativa varför vi hoppas rapporten kan vara till glädje för andra som arbetar med att bevara flodkräftan.

Anton Halldén
Länsfiskekonsulent

Daniel Rydberg
Handläggare/fiske

Innehållsförteckning

Förord.....	5
Sammanfattning	8
Bakgrund	10
Syfte med rapporten.....	11
Del 1	12
Flodkräftans tillbakagång i sjön Vrången - möjliga orsaker och förslag till åtgärder	12
Innehållsförteckning	13
Sammanfattning	14
Inledning	15
Bakgrund och syfte	15
Beståndstätheter av kräftor	15
Vattenkvalitet och kräftor	17
Sjukdomar	17
Litteraturgenomgång om hormonella störningar	18
Egna resultat och utvärdering av befintligt material.....	20
Allmänt om Vrången.....	20
Kräftbeståndet: Provfiskeresultat och beståndsutveckling 1992-2006	20
Kemisk-fysikaliska faktorer	23
Tidigare analyser av sjukdomar och könskaraktärer.....	26
Fisk	26
Vegetation och bottenfauna.....	27
Avslutande kommentarer och rekommendationer.....	28
Är kräftorna i Vrången fertila?	29
Miljögifter.....	30
Fisk	30
Stödutsättning	30
Framtiden	30
Tack.....	30
Referenser hormonella störningar.....	31
Använda källor och referenser	32
Bilaga 1	33
Bilaga 2	34
Bilaga 3	35
Del 2	41
Beståndstatus och reproduktion hos flodkräfta i Vrången och Fjärasjö.....	41
Innehållsförteckning	42
Sammanfattning	43
Sammanfattning	43
Bakgrund	44
Syfte	45
Metoder och genomförande	45

Sjukdomsanalyser	45
Provfiske och kontroll av tidigare utsättningsresultat	46
Reproduktionskontroll.....	46
Försöksburar	47
Mätningar.....	49
Resultat	49
Sjukdomsanalyser	49
Provfiske och kontroll av tidigare utsättningsresultat	49
Reproduktionskontroll.....	49
Kläckningsresultat juni 2008.....	51
Slutsatser.....	53
Tack.....	54
Referenser	55
Bilaga 1.....	56
Del 3	60
Provfiske efter signalkräfta i Vrången 2008 samt resultat av kräftpestanalyser från kräftor i Vrången, Fjärasjö och Fagerhultasjön.....	
 Innehållsförteckning	61
Sammanfattning	62
Sammanfattning	62
Inledning	63
Metoder och genomförande	63
Resultat	65
Slutsatser.....	66
Referenser	67

Sammanfattning

Sjön Vrången är ett Natura 2000-område i Jönköpings län med en bevarandeplan som fastställdes år 2006. I sjön finns bland annat flodkräfta, och sjön har höga naturvärden knutna till naturtypen: ”3130 Oligomesotrofa sjöar”. Fram till 2006 bedömdes bevarandestatusen för området vara måttlig beroende på flodkräftans tillbakagång och att vattnet idag är brunare än tillståndsklass 2. Fram till 2006 var Vrången en av få sjöar med flodkräfta i Jönköpings län. Sjön ligger cirka en mil nordost om Vetlanda. Sjön ingår i Fagerhultasjöns och Vrångens fiskevårdsområde. I mitten av 1990-talet verkade det som om flodkräftbeståndet började minska. Det fanns bland annat vattenkemidata, resultat från kräftprovfisken samt sjukdoms- och fysiologiska analyser av några på flodkräftor från år 2004. Däremot hade data inte sammanställts på ett sådant sätt att det var möjligt att utvärdera och försöka förstå vad nedgången kunde bero på. I bevarandeplanen bedömdes att flodkräftbeståndet behövde öka på naturlig väg (reproducerande bestånd) om området skulle kunna uppnå god bevarande status.

Ekoll HB fick i uppdrag av Länsstyrelsen i Jönköpings län att med hjälp av befintligt material, och kompletterande undersökningar (bland annat kräftprovfiske år 2006), göra en utvärdering om varför flodkräftbeståndet kan ha minskat och föreslå åtgärder och framtida undersökningar för att kunna lyckas få tillbaka ett livskraftigt och fiskbart bestånd i sjön.

Denna utredning (Del 1 i denna rapport) visade att flodkräftbeståndet minskat successivt sedan 1993 och fångsten 2006 (mindre än en flodkräfta per mjärde) var den lägsta kända fångsten i Vrången sedan kräftpestutbrottet 1934. En sjö som Vrången borde kunna ge fångster på 4-8 kräftor per mjärde. Kräftor är känsliga för försurning men det fanns inget som tydde på att försurningen skulle kunna förklara beståndsnedgången. Detta styrktes såväl av vattenkemiska data som av fiskbeståndets sammansättning (reproduktion av mört) samt förekomst av snäckor. Vid en fysiologisk undersökning, av bland annat tre flodkräftanar från Vrången 2004, fann man misstanke om att hanarna även hade honliga romanlag. Provfisket år 2006 visade däremot att såväl hanar som honor var könsmogna i en normal frekvens. Reproduktionsframgången kan vara avgörande för ett kräftbestånds storlek. Det finns en rad olika metalljoner, hormoner och organiska miljögifter som kan orsaka ”tvåkö-nighet”. Analyser av sediment och vatten från 2006, samt gädda från tidigare år, visade inte på förhöjda halter av tungmetaller. Ej heller kunde någon rimlig föroreningskälla till Vrången hittas. Analyser av sjukdomar på flodkräftorna år 2004 visade inte på någon allvarligare kräftparasit, även om kräftpest inte kunde uteslutas helt. Vid provfisket 2006 hade 7% av kräftorna porslinssjuka. Baserat på dessa resultat gavs följande rekommendationer: 1) genomför fler sjukdomsanalyser på kräftor från Vrången (21 stycken hade konserverats) 2) genomför ett reproduktionsförsök för att konstatera om kräftorna i Vrången kan föröka sig normalt 3) analysera organiska miljögifter i sediment och kräftor 4) gör en stödutsättning med nytt genetisk material på en lokal för att följa utvecklingen av beståndet.

Efter detta skedde en liten utsättning av flodkräftor på en lämplig lokal i Vrången, senhösten 2006. Ekoll HB fick i uppdrag av Länsstyrelsen i Jönköpings län att följa upp denna utsättning samt att genomföra ett korsningsförsök i Vrången (Del 2 i denna rapport). Sjön provfiskades under hösten 2007 men inga kräftor fångades. Trots intensivt letande under

nattetid kunde inga kräftor noteras i sjön, inte ens på utsättningsplatsen. Reproduktionsförsöket fick därmed ett annat upplägg. För att kunna bedöma om flodkräftor kunde överleva i Vrången, och föröka sig normalt, gjordes ett försök där flodkräftor från den närbelägna Fjärasjö användes. Dessutom finns det i denna sjö signalkräftor. Mellan hösten 2007 och sommaren 2008 undersöktes reproduktionsframgången hos flodkräftor i båda sjöarna parallellt med signalkräfta i Fjärasjö. Detta genom att kräftorna fick para sig i burar belägna i sjöarna. Sedan följdes kräffthonorna individuellt till dess de kläckte sina yngel sommaren 2008. Resultaten visade att flodkräftorna hade överlevt och att de kunde kläcka fram yngel på ett normalt sätt i Vrången. Kläckningsresultaten i Fjärasjö var dock något bättre. Sjukdomsanalyserna på de 21 flodkräftorna som fångades i Vrången (2006) visade inte på kräftpest. Baserat på dessa resultat konstaterades att det inte fanns något då som tydde på att flodkräftorna inte skulle kunna återintroduceras i Vrången. Däremot att en återintroduktion inte borde ske förrän orsakerna till att beståndet försvann efter 2006 klarlagts. Rekommendationen blev att undersöka om signalkräftor kan ha planterats in i sjön, i så fall utan tillstånd, och att eventuell fångst skulle analyseras med avseende på kräftpest.

Baserat på dessa rekommendationer genomförde Länsstyrelsen i Jönköpings län ett kräftfiske i hela sjön, hösten 2008. Vuxna signalkräftor fångades i norra och västra delen av sjön (13 stycken). Fångsten var fördelad på endast tre av 20 linor. Eftersom signalkräftor fångades skickades dessa in för kräftpestanalys (Del 3 i denna rapport). Samtidigt gjordes kräftpestanalyser på de fyra flodkräftor som överlevt i sumparna i Vrången. Från sambeståndet i Fjärasjö skickades även 10 vuxna flodkräftor och 10 vuxna signalkräftor in för kräftpestanalys, liksom 10 stycken signalkräftor från den närbelägna Fagerhultasjön (signalkräftsjö). Analyserna visade att inga av de inskickade kräftorna hade kräftpest.

Eftersom flodkräftbeståndet försvann helt från Vrången år 2007 var det inte möjligt att gå vidare med planerade korsningsförsök för att utreda om det tidigare beståndet av flodkräfta i Vrången hade nedsatt reproduktionsförmåga. Det är ändå sannolikt att det varit ett kräftpestutbrott i Vrången. Mönstret är väldigt tydligt för kräftpest som spridits med signalkräfta. Vid provfisket 2006 fångades visserligen inte så många flodkräftor i mjärdarna, men relativt många småkräftor observerades. År 2007 observerades inga flodkräftor någonstans i sjön. År 2008 fångades istället signalkräftor, bl a på den plats där både småkräftor och vuxna individer av flodkräfta fångats 2006. Det var däremot oväntat att signalkräftorna som fångats i Vrången (och även Fagerhultasjön) inte påvisats ha kräftpest. För att kunna göra bedömningar inför framtiden om hur stor andel av signalkräftor som är bärare av kräftpest vore det önskvärt att fler analyser gjordes på signalkräftorna i Vrången (och andra signalkräftsjöar). När det gäller Vrången kan det inte uteslutas att de signalkräftor som numera finns i sjön faktiskt kan vara pestfria. Även om signalkräftorna skulle vara pestfria är det tveksamt om en återintroduktion av flodkräfta skulle lyckas eftersom signalkräftan efter en längre tid verkar konkurrera ut flodkräftan. Med tanke på flodkräftans nedgång i Vrången, fram till 2006, är det intressant att följa signalkräftans beståndsutveckling i sjön.

I Vrången innebär en förmodad framtida etablering av signalkräfta att ekosystemets sammansättning och funktion förändras framöver. För att Vrången skall vara en sjö med höga naturvärden (naturtyp 3130) bör ett övervakningsprogram startas redan nu. Detta skall innefatta såväl, kräft- och fiskbeståndens utveckling som inventering av bottenfauna och vattenvegetation i olika delar av sjön. Genom denna dokumentation kan en unik kunskap byggas om hur naturtypen (3130) påverkas när signalkräftan etableras. En kunskap som är av såväl nationellt som europeiskt intresse.

Bakgrund

Flodkräftan (*Astacus astacus*) är idag en hotad art både i Sverige och i Europa. Den största anledningen är dess känslighet för kräftpest. Flodkräftan klassades 1996 som sårbar i IUCN:s internationella rödlista. 2010 uppdaterades denna lista och arten klassas nu som akut hotad (CR) vilket innebär att den bedöms löpa extremt hög risk att dö ut i vilt tillstånd. För att hotade arter och/eller naturtyper i Sverige inte skall riskera att försvinna finns det särskilda åtgärdsprogram som är fastställda av Naturvårdsverket. Ett reviderat åtgärdsprogram för att bevara flodkräftan utkom 2009 (Edsman och Schröder 2009). Man uppskattar i denna rapport att antalet förekomster minskat med 97 % procent sedan kräftpesten kom hit år 1907. Målet med åtgärdsprogrammet är att flodkräftan ska ha förutsättningar att finnas kvar i landet, och kunna fiskas av kommande generationer. Rekommendationerna, enligt åtgärdsprogrammet, är bland annat följande: att bevara livsmiljöer för flodkräftor genom kalkning och att återintroducera flodkräfta där de har god chans att överleva, att förhindra illegala inplanteringar med signalkräfta och att ge länsstyrelser möjligheter att skydda kvarvarande flodkräftbestånd genom att avsätta ett visst område som skyddsområde för flodkräfta. I dessa skyddsområden är det bland annat förbjudet att plantera ut signalkräfta.

Inom Europa finns ett speciellt nätverk som syftar till att bevara hotade arter och naturtyper. Flodkräftan är upptagen i EU:s art- och habitatdirektiv, Bilaga 5, vilken innefattar ”arter som är av gemenskapsintresse för vilka insamling i naturen och exploatering kan bli föremål för förvaltningsåtgärder”. För särskilt skyddsvärda arter och naturområden bör så kallade Natura 2000-områden bildas. På detta sätt säkerställs naturvärden inför framtiden inom EU och varje land åtar sig att förvalta sina utvalda områden. Det skall finnas en bevarandeplan som beskriver syfte och mål med varje Natura 2000-område samt de hot mot områdets naturtyper och arter som idag kan identifieras och anses väsentliga. Målet är att angivna arter och naturtyper ska ha så kallad ”gynnsam bevarandestatus”, vilket i praktiken innebär att deras förekomst ska vara stabil eller ökande. Bevarandeplanen fastställs av Länsstyrelsen och kan revideras när ny kunskap tillkommer eller om omständigheterna i eller utanför området ändras.

I Jönköpings län finns bland annat Natura 2000-området Vrången (SE 0310338). Vrången är en sjö med en bevarandeplan som fastställdes år 2006 (Länsstyrelsen i Jönköpings län 2006). I sjön fanns bland annat flodkräfta, och sjön har höga naturvärden knutna till naturtypen: ”3130 Oligomesotrofa sjöar med strandpryl, braxengräs eller annuell vegetation på exponerade stränder”. Enligt bevarandeplanen (Länsstyrelsen i Jönköpings län 2006) utgör utsättning av signalkräfta i sjön och skogsbruk i närområdet aktuella hot mot området och dess naturvärden. Fram till 2006 bedömdes bevarandestatusen för området vara måttlig beroende på flodkräftans tillbakagång och att vattnet idag är brunare än tillståndsklass 2.

Syfte med rapporten

Denna rapport är en sammanfattning av olika delprojekt som genomförts i sjön Vrången mellan 2006 och 2008. Kompletterande undersökningar har även genomförts i två närbelägna kräftsjöar, Fjärasjö (sambestånd av flod- och signalkräfta) samt Fagerhultasjön (signalkräftsjö). Syftet med projektet var att, inom ramen för bevarandeplanen, utreda orsakerna till att flodkräftbeståndet minskat i Vrången sedan 1990-talet och dessutom ge förslag på åtgärder och undersökningar för att bevarandestatusen skulle kunna bli ”god”. Denna sammanställning redovisar i kronologisk ordning resultaten från tre olika delprojekt.

Del 1. Utreda varför flodkräftbeståndet i Vrången verkade ha minskat sedan 1992.

Denna undersökning baserades på tidigare provfiskeresultat, vattenkemiska data, sjukdomsanalyser, fysiologiska undersökningar av flodkräftorna samt på ett provfiske som genomfördes år 2006. Syftet med denna rapport var även att föreslå åtgärder för att om möjligt få flodkräftbeståndet att öka igen.

Del 2. Reproduktionsförsök.

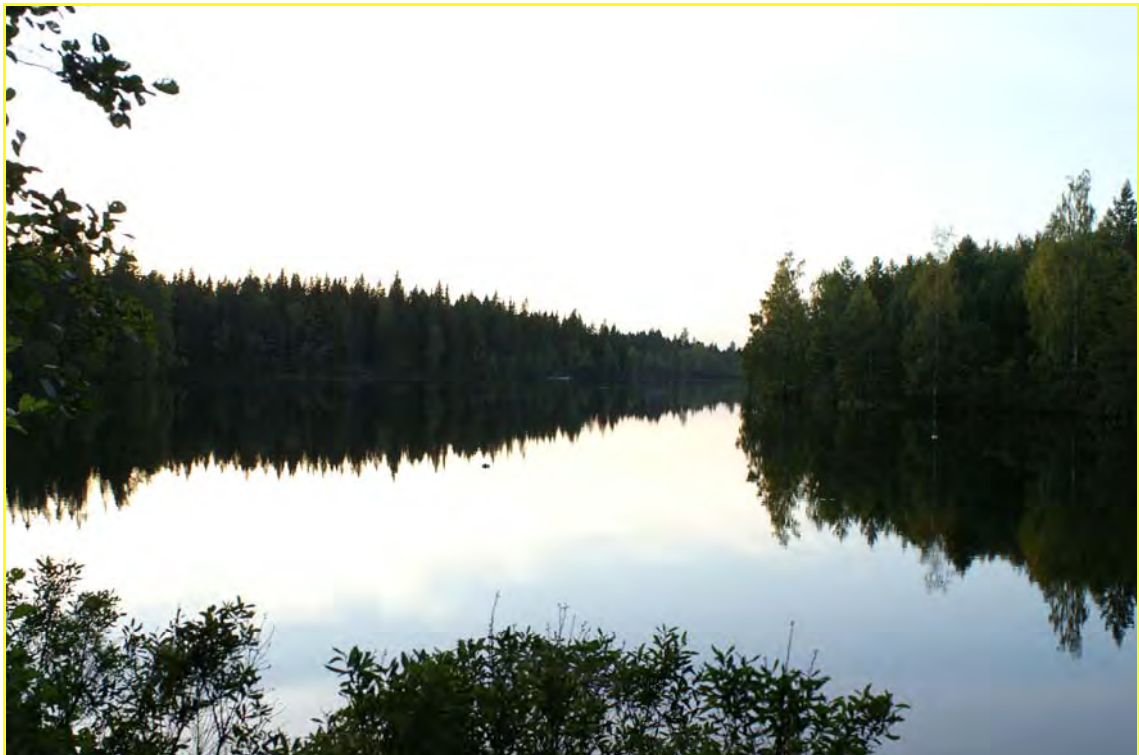
Ett fältförsök genomfördes i Vrången samt i Fjärasjö där kläckningsframgång hos flodkräftor kontrollerades (i Fjärasjö även signalkräftor). Detta gjordes genom att låta parade kräftthonor gå i burar i sjöarna från hösten 2007 till sommaren 2008. I denna rapport redovisas även resultat från en utsättning av flodkräftor i Vrången, hösten 2006 samt kräftpestanalyser av 21 flodkräftor som fångats i Vrången hösten 2006.

Del 3. Signalkräftor i Vrången och kräftpestanalyser.

Förekomsten av om signalkräftor i Vrången (fiske) undersöktes. De fångade kräftorna analyserades för kräftpest. Samtidigt gjordes pestanalyser av signal- och flodkräftor från Fjärasjö och signalkräftor från Fagerhultasjön.

Del 1

Flodkraftens tillbakagång i sjön Vrången - möjliga orsaker och förslag till åtgärder



På uppdrag av Länsstyrelsen i Jönköpings län, Ekoll HB:
Per Nyström
Marika Stenberg
Kajsa Åbjörnsson

Innehållsförteckning

Sammanfattning.....	14
Inledning	15
Bakgrund och syfte	15
Beståndstätheter av kräftor	15
Vattenkvalitet och kräftor	17
Sjukdomar	17
Litteraturgenomgång om hormonella störningar	18
Egna resultat och utvärdering av befintligt material.....	20
Allmänt om Vrången	20
Kräftbeståndet: Provfiskeresultat och beståndsutveckling 1992-2006	20
Kemisk-fysikaliska faktorer	23
Tidigare analyser av sjukdomar och könskaraktärer.....	26
Fisk	26
Vegetation och bottenfauna	27
Avslutande kommentarer och rekommendationer	28
Är kräftorna i Vrången fertila?.....	29
Miljögifter.....	30
Fisk	30
Stödutsättning	30
Framtiden.....	30
Tack.....	30
Referenser hormonella störningar	31
Använda källor och referenser.....	32
Bilaga 1	33
Bilaga 2	34
Bilaga 3	35

Sammanfattning

Syftet med denna utredning är att förstå och fastställa orsaken/orsakerna till att beståndet av flodkräfta i sjön Vrången (x/y: 637475, 146936), verkar minska. I uppdraget för Länsstyrelsen i Jönköpings län ingick även att föreslå åtgärder och kompletterande undersökningar för att om möjligt få beståndet att öka. Sjön ligger i Vetlanda kommun och ingår i Emåns avrinningsområde. Vrången är cirka 159 hektar, långsmal och näringsfattig skogssjö. Sjön har ett maxdjup på 12,5 meter och ett medeldjup på 3,9 meter. Omsättningstiden är 3,77 år. Sjön drabbades av kräftpest år 1934 men nya flodkräftor sattes ut mellan 1946-1961. Sjön kalkades år 1993. Vrången har ypperliga förutsättningar för att hysa flodkräfta med sina steniga bottenar. Baserat på befintligt material som tillhandahållits av Länsstyrelsen i Jönköpings län samt egna provtagningar (september 2006) konstaterar vi följande:

- 1) Flodkräftbeståndet har minskat successivt sedan 1993 och en fångst på mindre än 1 kräfta per mjärde år 2006 är den lägsta fångsten någonsin i Vrången och betydligt lägre än vad man kan förvänta sig i en sjö med förhållandevis goda bottenar för kräftor. Fångsten borde vara i storleksordningen 4-8 kräftor per mjärde, vilket den var i början av 1990-talet.
- 2) Förurning är ingen förklaring till att beståndet minskat. Vattenkemidata (1991-2005 och våra mätningar), fiskdata (provfiske år 1992 och vårt reducerade provfiske) samt förekomsten av snäckor och musslor vid vår undersökning styrker detta.
- 3) Det finns indikationer på att reproduktionen hos kräftorna kan vara nedsatt eftersom det finns hanar med honliga könsskaraktärer (år 2004). Vårt provfiske däremot visar att frekvensen av könsmogna djur är normal. Det finns en rad olika metaller, hormoner och organiska miljögifter som kan orsaka uppkomsten av sekundära könsskaraktärer. Vi har inte funnit någon kontinuerlig källa för tillförsel av dessa ämnen i Vrångens avrinningsområde. Om det har skett utsläpp är det snarare ett punktutsläpp eller en dumpning som inte är känd. Våra analyser av vatten och sediment (om än begränsade i tid och till en lokal) indikerar dock att metaller inte bör vara en bidragande orsak till kräftornas symptom.
- 4) Nya forskningsrön i Finland indikerar att kräftpest (troligen den ursprungliga som kom till Sverige år 1907, eller en variant av denna) kan förekomma i flodkräftbestånd. Denna kräftpest är en mindre snabbväxande variant (jämfört med den som finns hos signalkräftan) vilket gör att flodkräftan kan överleva en tid. Dock verkar sjukdomen ha en negativ påverkan på bestånden. Analyser av några kräftor från Vrången (hösten 2004) kunde varken styrka eller utesluta att kräftpest.

Två möjliga orsaker till att beståndet minskar är dels sjukdomar (kräftpest) och dels störd reproduktion. Varför denna reproduktionsstörning skulle uppkomma är inte känt. Vi rekommenderar därför följande: 1) fler sjukdomsanalyser och fysiologiska undersökningar av kräftorna (21 stycken finns konserverade) 2) genomförande av korsningsförsök med andra flodkräftor för att bedöma om Vrångens kräftor är fertila 3) att en bedömning görs om naturlig reproduktion sker i Vrången, 4) analyser av organiska miljögifter i sediment, fisk, musslor och flodkräftor. Det kan finnas genetiska begränsningar hos flodkräftorna i Vrången som påverkar deras fertilitet, därför bör man på försök prova att sätta ut nya flodkräftor från en annan population på en lämplig lokal i Vrången. Med den kunskap vi har i nuläget finns det inget som tyder på att signalkräftan skulle klara sig bättre i Vrången än flodkräftan. Därför är det viktigt att ta reda på om kräftorna i Vrången verkligen har nedsatt fertili-

tet och om detta beror på något som har med förutsättningarna i sjön att göra. För övrigt har Vrången med sitt isolerade läge, få tillflöden och steniga bottenar mycket goda förutsättningar att hysa ett bra flodkräftbestånd.

Inledning

BAKGRUND OCH SYFTE

Syftet med denna utvärdering var främst att utreda orsaken/orsakerna till att beståndet av flodkräfta i sjön Vrången (x/y: 637475, 146936) i Jönköpings län verkar minska. Vi skulle även föreslå åtgärder och kompletterande undersökningar för att om möjligt få beståndet att öka. I uppdraget ingick även att genomföra ett standardiserat kräftprovfiske i sjön (på samma sätt som gjorts under 2003) samt att utvärdera och sammanställa befintligt material. Förutom resultaten från eget kräftprovfiske under hösten 2006 har vi erhållit information från Länsstyrelsen och fiskevårdsområdet om bland annat vattenkemi (1991-2005), hälsokontroller på kräftor (1990-2004) samt resultat från tidigare kräft- och fiskprovfisken (1992-2003). Några viktiga resultat och slutsatser från undersökningar av beståndet i Vrången under 2000-talet har vi fäst särskilt stor vikt vid att utreda:

- 1) Minskning av fångsterna trots godtagbar vattenkemi
- 2) Förekomst av hanar med honliga könskaraktärer (ägganlag)
- 3) Förekomst av kräftpest eller andra parasiter som kan påverka beståndet negativt

Utredningen lades upp på följande sätt: för att fastställa minskningens omfattning analyserades tidigare genomförda provfiskeresultat (1992-2003) och sjöns förutsättningar för kräftor, bland annat genom att titta på kemisk-fysikaliska faktorer. Vi genomförde också ett provfiske (2006) där bland annat könsmognaden hos hanar och honor bedömdes. Detta har inte gjorts vid tidigare provfisken. En litteraturgenomgång gjordes av ämnen som kan orsaka "tvåkönighet". Vi utredde om det fanns möjliga källor för dessa ämnen i Vrångens avrinningsområde. Ytterligare prov (bland annat kräftor) samlades in för framtida fysiologiska och patologiska analyser. I samband med provfisket efter kräftor år 2006 gjorde vi även några kompletterande undersökningar som analyser av tungmetaller i vatten och sediment, evertebratundersökningar, förenklat provfiske av fiskbeståndet samt maganalyser av abborre.

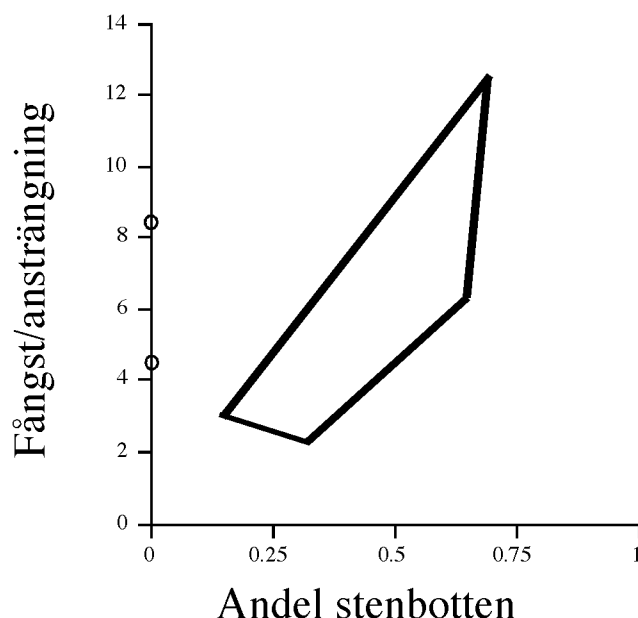
BESTÅNDSTÄTHETER AV KRÄFTOR

Det finns flera faktorer som påverkar hur täta kräftbestånd blir samt den individuella tillväxten hos kräftor i sjöar och vattendrag. Även om vi har två kräftarter i Sverige, den inhemska flodkräftan och den sedan 1960-talet introducerade signalkräftan, är de relativt lika i krav på sin miljö och det verkar vara samma faktorer som reglerar deras tätheter. Vid samma miljöförhållanden är tätheterna för de båda arterna i princip likvärdiga. Vi vet att fångsterna av etablerade signal- och flodkräftbestånd varierar inom en sjö mellan olika år men också mellan olika sjöar. Vi kan grovt dela upp de vanligaste faktorerna som reglerar kräftbestånd i fysikalisk-kemiska faktorer, sjukdomar samt predation och kannibalism.

Generellt verkar kräftpopulationers storlek regleras av rekryteringen av småkräftor till könsmoget stadium. Försämrad reproduktion och dålig rekrytering är en viktig faktor till att försurning har en negativ inverkan på kräftbestånd (se avsnittet nedan om vattenkvalitet).

Faktorer som reglerar beståndstätheter av kräftor mellan olika sjöar där försurning eller sjukdomar inte är ett problem beror i huvudsak på förekomsten av sten i sjöarnas litoralzon (strandzon) vilket är en förutsättning för att ett tätt kräftbestånd skall kunna etableras. Stenrika bottenar gör att det finns gott om skydd för både små och stora kräftor mot predation och kannibalism. Samma mönster finner vi ofta inom samma sjö. De stenrika bottenarna hyser oftast flest kräftor. Ett riktvärde för en kräftsjö belägen i Södra Sverige (exempelvis i Jönköpings län) kan vara att om 25 % av litoralzonen utgörs av stenbotten (i detta fall ned till ett djup med goda syrgasförhållanden) bör man fånga 2-3 kräftor per mjärde. Om 75 % av botten i stället utgörs av sten bör fångsten vara 9-13 kräftor per mjärde (Figur 1). Djuputbredningen av kräftor i en sjö begränsas ofta av syrgasförhållanden (kräftorna tål inte syrgasmättnader under 25 %) och för de mindre kräftorna även av predationsrisken. I de flesta svenska sjöar är abborren den vanligaste predatorn på kräftor, och abborrar som är minst 15 centimeter kan äta kräftor. Abborrar på 25 centimeter kan äta kräftor som är 9 centimeter långa. Även om abborren är en viktig predator på kräftor kan det finnas mycket kräftor i stenrika sjöar trots att förekomsten av abborre är god. Det är sannolikt att den predator som kan ha störst betydelse för kräftbestånden i sjöar är ål. Riklig förekomst av ål (mer än 0,2 kg/Ha) medför därför att kräftbestånden är glesare än vad man kan förvänta sig i en, för övrigt likartad, sjö där abborren är den dominerande predatorn. Sjöars näringsstatus verkar inte påverka tätheten av kräftor, däremot är tillväxten för kräftor större i näringsrika sjöar.

Variationer i fångst mellan olika år är också vanliga i sjöar och sannolikt ett resultat av att reproduktionen är god vissa år medan den är sämre andra år. Exempelvis kan temperaturvariationer mellan olika år påverka när ynglen kläcks och därmed deras möjligheter att tillväxa och överleva till exempel vintern.



Figur 1. Förväntad fångst av kräftor i relation till andelen sten som förekommer på botten. Baserat på kräftfångster i 10 sjöar med signalkräfta i södra Sverige 2002. Ringarna på y-axeln anger intervallet där kräftfångsten i Vrången borde ligga (58 % stenbotten).

Slutsats: I en "normal" kräftsjö i södra Sverige där bestånden inte är negativt påverkade av till exempel försurning eller sjukdomar finns variationer mellan år i fångsten av kräftor. Detta beror sannolikt på bra och mindre bra år av rekrytering av småkräftor. För en sjö som Vrången där 58 % av litoralzonen utgörs av stenbotten bör man i genomsnitt fånga mellan 4-8 kräftor per mjärde (Figur 1).

VATTENKVALITET OCH KRÄFTOR

I Sverige är försurningen av sjöar och vattendrag ett av de största hoten mot våra sötvattenskräftor vilket har visats i ett flertal studier och experiment. Försurningseffekterna är komplexa men det är tydligt att ett pH-värde mellan 5,5-6 i samband med att kräftorna lägger sin rom (oktober) eller när ynglen kläcks (juni) är tillräckligt lågt för att dödlighet av rom och yngel skall öka, vilket medför en beståndsminskning. I samband med försurningen får man ofta förhöjda halter av aluminiumjoner, vilka i koncentrationer på 250 µg/l också orsakar ökad dödlighet hos nykläckta kräftyngel. Vidare medför lågt pH-värde (höga koncentrationer av vätejoner) störd saltbalans hos kräftor. Andra effekter av försurningen är att det blir brist på kalcium i vattnet, vilket är viktigt för att kräftorna skall kunna bygga upp sina skal. Vid låga kalciumhalter (mindre än 5000 µg/l) kan kräftornas skal bli tunnare och det tar längre tid för skalet att bli hårt efter en skalömsning. Skalet har stor betydelse för kräftor eftersom det skyddar mot såväl predation som parasitangrepp. Exempelvis har man observerat ökad frekvens av parasiten porslinssjuka i sura vatten. Eutrofiering av vatten är också ett ökande problem, men effekterna på kräftor i sjöar torde begränsas till att syrgasförhållanden kan försämrats och därmed påverkas djuputbredningen av kräftor.

Slutsats: Försurning är ett stort hot mot kräftor och orsakar beståndsnedgångar genom att påverka reproduktionen negativt. Vrången är en kalkfattig skogssjö som kan vara försurningspåverkad.

SJUKDOMAR

I Sverige har vi tre välkända kräftsjukdomar vilka nämns i fiskerilagstiftningen som ”smit-tosamma sjukdomar” på flodkräfta och som kan orsaka dödlighet. Dessa är kräftpestsvampen (*Aphanomyces astaci*) samt mikrosporidierna porslinssjuka (*Thelohania contejeani*) och *Pso-rospERMium haeckeli*. Det sker ständigt nya upptäckter av parasiter och virus hos kräftor i takt med att tekniker utvecklas. Men det är i dagsläget inte möjligt att göra några kopplingar mellan sjukdomsförekomst och populationsnedgångar i Sverige mer än för kräftpest. Av de välkända kräftsjukdomarna är det i princip bara porslinssjukans senare stadier som kan noteras på kräftor med blotta ögat. De andra kräver mer sofistikerade analyser. Livscykel och påverkan på naturbestånd av de ovan nämnda mikrosporidierna är mindre kända jämfört med kräftpesten. Båda förekommer hos kräftor i såväl naturbestånd som i odling men det finns inga entydiga bevis för att de skulle kunna orsaka mätbara nedgångar i beståndstätheter, åtminstone inte i naturbestånd. Om infektionsgraden är stor (en individ har många syster av *Pso-rospERMium*) eller om många individer är infekterade (hög frekvens av individer med porslinssjuka) kan detta tyda på att beståndet har ett nedsatt sjukdomsförsvar till följd av till exempel dålig vattenkvalitet. Exempelvis ökade frekvensen av porslinssjuka hos den nordamerikanska kräftan *Orconectes virilis* från 1.7% till 7.7% i en sjö som försurades.

Kräftpesten är den sjukdom som är mest välstuderad men trots det finns idag nya forskningsrön som visar att vi fortfarande inte känner till allt om svampen (se nedan). Tidigare bedömde man att flodkräftbestånd antingen hade pest och alla flodkräftorna var döda eller så var beståndet pestfritt. En grov beskrivning av sjukdomen är att svampen sprider sig med simmande sporer (zoosporer) från en smittad kräfta (kan vara flodkräfta eller signalkräfta) till en ny kräfta vilket måste ske inom några dagar (annars överlever zoosporen inte). Dock har experimentella studier visat att zoosporen kan överleva upp till två veckor i sediment men det finns inga vilstadier hos svampen och den finns bara på sötvattenskräftor. Zoosporerna kan däremot följa med andra organismer och spridas. På samma sätt kan skalrester eller fekalier från djur som ätit smittade kräftor (till exempel utter) sprida sjukdomen. Trots att spridningsmöjligheterna är många skall kräftfria sjöar betraktas som pestfria. Hos

flodkräftan sätter sig zoosporen på skalet och svampen utvecklas sedan och växer in i djuret som dör inom några veckor. En viktig sak att beakta när det gäller kräftpesten är att mängden zoosporer som angriper en kräfta är avgörande för sjukdomsförloppet. Det är därför möjligt att en flodkräfta kan klara ett angrepp av enstaka sporer. Många andra faktorer kan påverka sjukdomsförloppet, till exempel vattentemperatur och det finns även olika stammar av kräftpest som är mer eller mindre virulenta (aggressiva). För närvarande sker mycket forskning på detta område.

Baserat på kunskapen om kräftpesten har man i vissa länder återutsatt flodkräftor efter kräftpestutbrott eftersom svampen inte kan överleva utan kräftor. I många fall har det lyckats men i andra fall har utbrott av kräftpest återkommit.

I Norge har utplantering av kräftor i olika vatten entydigt visat en mycket lägre kräfttäthet efter utplantering än innan kräftpestutbrottet, även i vatten över 10 år efter utsättningstillfället. I L. Einavann till exempel tog det 25-30 år efter utsättningen tills populationen nådde en täthet värd att fiska. Enligt de senaste forskningsrönen från finska forskare misslyckas ofta utsättningar efter kräftpestutbrott även i Finland. En förklaring till det dåliga resultatet kan möjligtvis förklaras av förekomsten av en typ av kronisk kräftpest. I en uppföljande studie av ett kräftpestutbrott i en finsk sjö fann man några få överlevande flodkräftor varje år. *Aphanomyces astaci* kunde isoleras från en av dessa individer tre år efter utbrottet. En andra isolering gjordes från en annan individ fångad på samma plats som den första mer än ett år senare. I båda fallen var isolaten genetiskt lika den ursprungliga kräftpesten "Astacus-stammen". Denna kräftpeststam verkar vara mindre snabbväxande än den som finns på signalkräftan och har på senare år ofta blivit kopplad till oväntad kräftpestförekomst hos flodkräftor där det inte förekommer massdödlighet.

Slutsatser: Man kan inte utesluta att kräftpest kan förekomma i flodkräftbestånd även om det inte finns dokumenterade utbrott eller massdödlighet. Förekomsten av "kronisk kräftpest" hos flodkräftbestånd kan således inte uteslutas och kan möjligen bidra till att bestånd minskar eller inte återhämtar sig efter utbrott. Förekomsten av andra sjukdomar än kräftpest kan ha en negativ påverkan på bestånd. Förekomst av en mindre aggressiv variant av kräftpest på kräftorna i Vrången skulle kunna förklara varför beståndet minskar.

LITTERATURGENOMGÅNG OM HORMONELLA STÖRNINGAR

Det finns idag även andra typer av miljöproblem, exempelvis tillförsel av hormoner och olika typer av miljögifter. Dessa kan bland annat påverka reproduktionsframgången hos många djur. Eftersom misstanke om tvåkönighet (bilaga 3) finns hos kräftbeståndet i Vrången redovisar vi nedan en litteraturgenomgång i ämnet. Angivna referenser finns på sidan 20.

Hormonsystemet är tillsammans med nervsystemet och immunförsvaret nödvändigt för att en organism ska fungera normalt. De olika systemen är sammankopplade vilket innebär att en störning i det ena systemet kan få konsekvenser i de andra. Hormonerna kontrollerar processer som till exempel reproduktion, tillväxt, utveckling och energibalans. I dagsläget finns en stor mängd data som visar på att störningar i hormonsystemet kan vara orsakade av ämnen som liknar organismens egna hormoner och kan störa funktionen och balansen av dessa. Dock kan dessa effekter även uppkomma till följd av miljögifter som inte är kopplade direkt till det hormonsystemet (Manning 2005). Östrogenliknande ämnen som påverkar hormonsystemet har en av följande egenskaper; i) de är närvarande i miljön i höga koncentrationer, ii) de bryts ner väldigt sakta i miljön och ackumuleras i näringskedjan, så att t ex rovdjur kan "samla på sig" väldigt höga koncentrationer (biomagnifikation) eller iii)

de tillförs kontinuerligt (Mills & Chichester 2005). Exempel på hormonstörande ämnen är insektsdödande medel (klorerade insekticider) som till exempel DDE och lindan, svampdödande medel (fungicider) som till exempel vinclozolin, ogräsbekämpningsmedel (herbicider) som till exempel linuron och diuron och ftalater som bl.a. används som vattenavstötande medel för textilier, samt det aktiva ämnet tributylten (TBT) som finns i många båt-bottenfärger (Sumpter 2005).

Miljögifters hormonstörande effekter på organismer kan vara svåra att upptäcka eftersom de ger sig till känna först efter en längre tids exponering. Förändringarna är inte heller lika tydliga som ökad dödlighet; det kan till exempel handla om ändrad könsfördelning hos avkomman, minskat antal avkommor eller stort parningsbeteende (Linderoth 2006). Reproduktionsförmåga kan bedömas till exempel genom att räkna antal ägg och antal ungar men man kan även använda andra metoder till exempel att mäta ämnen i organismen som har med reproduktion att göra t ex steroidhormoner, vitellogenin (se nedan) eller att titta på reproduktionsorganens vävnader (McDonald et al. 2000). Dessa så kallade "biomarkörer" är användbara för att undersöka effekter av miljörelaterad stress, till exempel kemiska föroreningar och övergödning, på organismers reproduktionsförmåga men kan även användas för att förutspå framtida reproduktionsförmåga och framtida beståndstätteter.

Vitellogenin är ett protein som är kopplat till östrogen och fungerar därför som ett mått på eventuell östrogen aktivitet. Vitellogenin är ett förstadium till ett ägguleprotein som vanligtvis förekommer hos köns mogna honor. Hos fiskar kan förhöjda halter leda till urlakning av kalcium från fiskfjällen samt lever- och njurskador. Fiskhanar med förhöjda vitellogeninhalter kan få missbildade könsorgan medan fiskar som ännu inte är köns mogna kan utveckla tvåkönighet. Vitellogeninhalter i organismer kan även påverkas av olika ämnen i miljön, t ex 17 β -ethinylestradiol (konstgjort östrogen som bland annat finns i p-piller) samt bekämpningsmedel som DDT, DDE, lindan, dioxin, atrazine. Även metaller och oorganiska föreningar (till exempel aluminium, kalcium, kadmium, bly, zink, kvicksilver och syror) har visat sig orsaka förändringar i reproduktionsförmågan och hormonsystemet hos organismer. Flera studier drar slutsatsen att friska hanar inte producerar vitellogenin och därför fungerar upptäckten av vitellogenin hos hanar som en utmärkt biomarkör för exponering av miljörelaterade östrogener (McDonald et al. 2000). Man bör dock även göra andra undersökningar innan man drar slutsatser om eventuella hormonella störningar hos en organism. Tillbakabildande av ägg hos honor (oocytartros) är en annan biomarkör som antyder att organismen är utsatt för miljöfarliga ämnen. Detta i kombination med vitellogeninhalt hos honan ger ett bra mått på reproduktionsförmåga.

I en studie genomförd av forskare i Holland användes andra biomarkörer än de vi nämnt tidigare för att se om dödlighet hos flodkräftor i ett vattendrag kunde kopplas till föroreningar i vattnet. Man tittade på förändringar i lever, gälar och vävnader hos öring. Dessutom analyserade man förekomst av ett protein som visar på fysiologisk stress (hsp70) i lever och gälar hos öring samt i småkryp (märlkräftor). Genom att använda dessa biomarkörer tillsammans med kemiska analyser av ett antal bekämpningsmedel (PCB och PAH) både i sediment och i vävnader från öring och flodkräfta kunde man koppla dödligheten hos flodkräfta med en tillfällig förorening (dumpning) som inträffat (Triebkorn et al. 2002).

Tvåkönighet (intersex) är när det finns både ägg och testikelvävnad i samma organ. Hos hanar med honliga karaktärer kan ägg vara spridda i testiklarna eller förekomma i avgränsade områden i testikelvävnaden (Milnes et al. 2006). Hos den australiska rödkloiga kräftan

(*Cherax quadricarinatus*) har man påträffat tvåkönade kräftor liknande de som hittats i Vrången. Studien visar att hanarna fungerar som hanar trots ägganlag och menar att tvåkönaden styrs av körtlar som producerar hanliga könshormoner som styr könsbildningen hos kräftdjur (Sagi et al. 1996). Hos denna art är 2-4% tvåkönade. Intersex (tvåkönighet) är väl dokumenterat hos mört som utsatts för utsläpp som innehåller östrogen eller östrogenliknande ämnen. Mörtar som har utvecklat tvåkönighet har ofta både honlig och hanlig könsöppning. Många bildar dessutom också honliga äggceller inom de hanliga organen (Mills & Chichester 2005). Tvåkönigheten påverkar mörtens könsmognad och minskar reproduktionsförmågan (Mills & Chichester 2005).

Slutsatser: Höga halter av till exempel tungmetaller, organiska miljögifter och östrogenliknande ämnen kan direkt och indirekt påverka reproduktionsframgången hos många vattenlevande organismer, bland annat fisk och kräftor. Genom att göra fysiologiska undersökningar av reproduktionsorgan samt mäta förekomsten av proteinet vitellogenin kan man utvärdera om reproduktionsframgången är nedsatt.

Egna resultat och utvärdering av befintligt material

ALLMÄNT OM VRÅNGEN

Vrången (sjönummer: 074397; x/y: 637475, 146936) ligger i Vetlanda kommun och ingår i Emåns avrinningsområde (074). Vrången är cirka 159 hektar, långsmal och näringsfattig skogssjö. Sjön har ett maxdjup på 12,5 meter och med ett medeldjup på 3,9 meter. Om-sättningstiden är 3,77 år. Sjön kalkades år 1993 och ingår i Fagerhultasjön och Vrångens fiskevårdsområde. Sjön har mångformig strand som mestadels är stenig. Omgivningen består i huvudsak av barrskog och myrmark men i norra delen finns även åker- och betesmark. Enligt den fastställda bevarandeplanen för Natura-2000 område (2006-04-20) visade naturvärdesbedömningen enligt System Aqua (år 2003) att sjön har mycket högt naturvärde och anses vara tämligen opåverkad, främst beroende på avsaknad av vattenståndsreglering samt obetydliga utsläpp och dikningar. Sjön har bland annat höga värden knutna till naturtypen oligo-mesotrofa sjöar (till exempel strandpryl och braxengräs). För övrigt häckar fiskljuse i sjön, och fiskfaunan består av sik (utsatt mellan 1938-47), sutare, gädda, mört och abborre. Sjön drabbades av kräftpest år 1934, och återutsättning har skett mellan 1946-1961. Vi har inte funnit något inventeringsunderlag för undervattensvegetation eller bottenfauna i sjön.

De aktuella hot som bevarandeplanen anger för sjön är utsättning av signalkräfta och skogsbruk i närområdet. Mer generella hot är försurning, reglering av sjön, för högt fiske-tryck på sik samt introducering av främmande arter och fiskstammar. I bevarandemålet för sjön kan nämnas att sik och flodkräfta ska finnas i reproducerande bestånd och att sjön skall högst ha tillståndsklass 2 enligt naturvårdsverkets bedömningsgrunder för näringsämnen, pH, absorptions och siktdjup. Exempelvis skall sjön vara svagt sur (pH 6,5–6,8) med god buffringsförmåga (0,1-0,2 mekv/l).

KRÄFTBESTÅNDET: PROVFIKESRESULTAT OCH BESTÅNDSUTVECKLING 1992-2006

Korrekt utfört är ett standardiserat provfiske efter kräftor en vedertagen metod för att göra bedömningar av statusen på ett kräftbestånd. Fördelen med metoden är att den ger ett god-

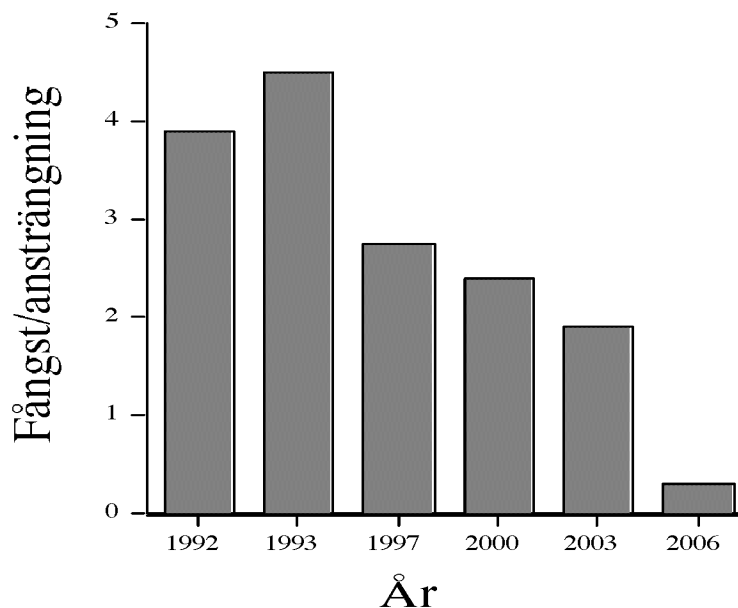
tagbart mått på kräftbeståndets storlek och anges som antalet fångade kräftor per mjärde (fångst per ansträngning, F/A). Man kan däremot underskatta beståndets storlek om provfiske sker i samband med skalömsningar (Tabell 1). Vidare får man ingen information om tätheten på småkräftor eftersom kräftor mindre än 6 centimeter (totallängd) normalt inte fångas i mjärdarna. I vårt provfiske har vi även bedömt kräftornas könsmognad (Tabell 1). Hos könsmogna hanar är sädesledarna (*vas deferens*) utvecklade (kan ses under ryggskölden) och könsmogna honor har utvecklade körtlar på undersidan av stjärten (cementkörtlar) samt brunaktiga men inte vita romanlag under ryggskölden.

Tabell 1. Våra kriterier för bedömning om provfisket skett vid rätt tidpunkt (om fångst per ansträngning speglar beståndstätheten) samt status på kräftbeståndet.

Parameter	Riktvärde
Tidpunkt:	
Skalömsning	≤ 10 % mjukskaliga
Könsfördelning	ej skevare än 60/40 (% ♀/♂)
Status:	
Könsmognad	≥ 80 %
Kloskador	≤ 15 %
Porslinssjuka	≤ 2 %

Flodkräftbeståndet i Vrången har provfiskats vid fem tillfällen mellan 1992 och 2003. Antalet mjärdar, mjärddtyp, betestyp och lokal har varierat men vid provfisket år 2003 användes 100 mjärdar av Lini-typ och vid provfisket 2006 placerade vi mjärdarna på samma lokaler som 2003 (Bilaga 1). Vid provfisket 2006 fångades 28 kräftor ($F/A = 0,3$), vilket är den lägsta redovisade fångsten någonsin i Vrången. Vi ser således en kraftig minskning i beståndet (Figur 2).

Även om det förekommit nyömsade kräftor vid en del provfisken (till exempel 2000, då var cirka 50 % mjukskaliga) påverkar detta inte slutsatsen att beståndet verkligen har minskat. Normala fångster i en sjö som Vrången borde vara 4-8 kräftor per mjärde (Figur 1).

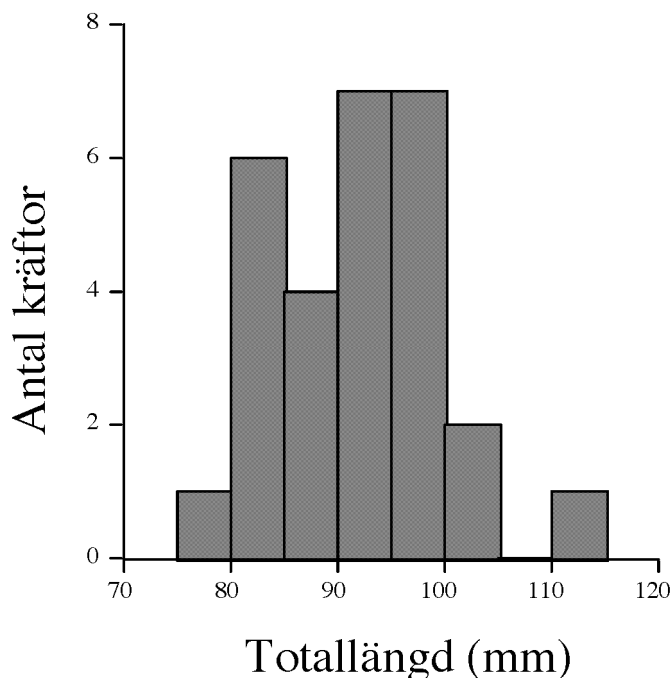


Figur 2. Fångst av flodkräfta per mjärde i Vrången vid provfisken under perioden 1992-2006.

Resultaten från provfisket 2006 visade att två kräftor var nyömsade (7 %) vilket är acceptabelt, könsfördelningen var däremot skev, endast 21 % var hanar (Tabell 1, Tabell 2). Det finns därmed en risk att provfisket ger en underskattning av beståndsstorleken men beståndet är trots det väldigt glest. Värt att notera är att alla utom en kräfthona var könsmogna, vilket visar att andelen könsmogna kräftor i fångsten är normal (Tabell 1). Den minsta kräftan som fångades var 77 mm (Figur 3). För övrigt noterades två kräfthonor av totalt 22 med porlinssjuka (Figur 4), vilket får betraktas som en något högre frekvens än vad man normalt finner i sjöar (Tabell 1).

Tabell 2. Resultat av kräftprovfiske efter flodkräfta i Vrången den 1 september 2006. Vid provfisket användes 100 Lini-mjårdar betade med braxen. Mjårdarnas placering i sjön framgår av Bilaga 1.

	Värde
Totalt antal fångade kräftor	28
Fångst per ansträngning (F/A)	0,28
Antal honor (könsmogna)	22 (21)
Antal hanar (könsmogna)	6 (6)
Medellängd (totallängd mm)	91
Längdintervall (totallängd mm)	77-113
Medelvikt (g)	23,5
Viktintervall (g)	13-52
Mjukskaliga kräftor (%)	7
Kloska defrekvens (%)	18
Porlinssjuka (%)	7



Figur 3. Storleksfördelning av 28 mjärdfångade kräftor i Vrången vid provfisket år 2006.



Figur 4. Tre flodkräffthonor fångade i Vrången vid provfisket 2006. Notera att de två kräftorna till höger i bild har vit stjärtmuskel vilket visar att de är infekterade med porslinssjuka. Man kan även se de vita cementkörtlarna runt segmenten på undersidan av stjärten på honan till vänster, vilket indikerar att den är könsmogen.

Förutom själva provfisket genomfördes även observationer av kräftor den 2 september mellan klockan 21-22. Ytan som genomsöktes (Bilaga 1) var cirka 150 m². Vi observerade 8 kräftor och sex av dem fångades (tre hanar och tre honor). Kräftorna var mellan 66 och 87 millimeter långa. Däremot kunde inga årsyngel observeras.

Slutsats: Resultatet från provfisket och observationer visar att kräftbeståndet är väldigt glest och fortsätter att minska. Kräftorna uppvisar normalfrekvens av könsmognad och viss reproduktion har med säkerhet skett för 2-3 år sedan. Frekvensen av porslinssjuka får betraktas som hög.

KEMISK-FYSIKALISKA FAKTORER

Ett vattenprov (mitt i sjön) och två sedimentprov (i samband med snorkling, Bilaga 1) togs i Vrången 3/9 2006 för analys av bland annat närsalter och ett antal metaller. En råvattenanalys gjordes av LMI AB. Proverna analyserades med hjälp av fyra olika instrument. pH-värdena mättes med en glaselektrod och konduktiviteten med en elektrod kopplat till en källa med växelström. Nitrat, ammonium och klorid mättes med en Autoanalyser som arbetar enligt principen Segmented Flow. Övriga metaller och närsalter analyserades med ICP-OES, där man med ICP menar Induktivt Kopplat Plasma och med OES menas Optisk Emission Spektroskopi. Metallanalyser av vatten och sediment gjordes även av avdelningen för Västekologi och systematik på Lunds Universitet (SS 028183 för slam).

Generellt kan sägas att vattnet är typiskt för en näringsfattig sjö med liten mänsklig påverkan. pH-värdet var 6,6, konduktiviteten 5 mS/m, kalciumhalten låg (3950 µg/l, Tabell 3) och vattnet mjukt (0,8 dH°). Metallhalterna i sedimentet och vatten (Tabell 4) ligger alla i tillståndsklass 1 enligt naturvårdsverkets bedömningsgrunder (mycket låga halter).

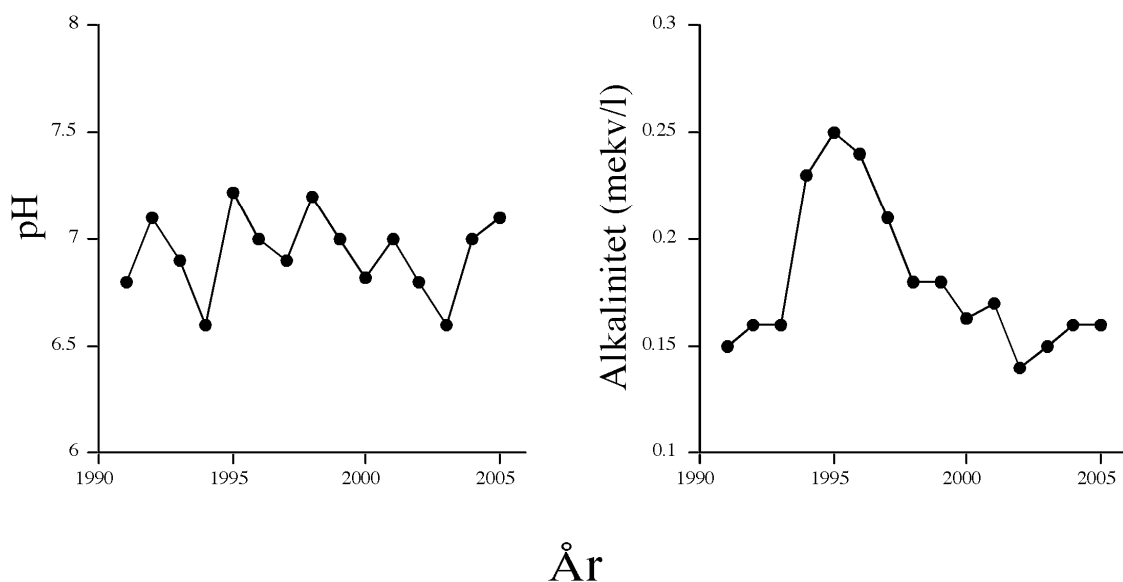
Tabell 3. Resultat av ytvattenprov tagna mitt i sjön Vrången 3/9-06. Analyser utförda av LMI AB i Helsingborg.

Ämne	µg/l
Nitratkväve	100
Ammoniumkväve	100
Fosfor	16
Magnesium	1610
Svavel	1220
Kalcium	3950
Natrium	4540
Klorid	2830
Mangan	82
Bor	21
Koppar	13
Järn	73
Zink	3
Molybden	3
Aluminium	5
Kisel	1490
Kalium	1540

Tabell 4. Analysrapport sediment (2 prov) och vatten från sjön Vrången, prov tagna 3/9-06. Analyser utförda av avdelningen för Växtekologi och systematik vid Lunds Universitet.

Ämne	Sedimentprov 1(µg/g ts)	Sedimentprov 2 (µg/g ts)	Vattenprov (µg/l)
Aluminium	3243	2953	11,0
Arsenik	2,23	1,91	0,25
Kadmium	0,47	0,35	0,00
Krom	3,44	2,63	0,089
Koppar	4,01	2,01	0,495
Järn	8930	9634	46
Kvicksilver	0,02	0,01	0,00
Nickel	2,38	1,81	0,194
Bly	14,9	7,4	0,00
Zink	55	46	0,50

Resultaten från tidigare vattenanalyser som vi erhållit från Länsstyrelsen indikerar även de att Vrången inte är försurad, det vill säga alkaliniteten har varje år sedan 1992 (oktober till mars) varit över 0,1 mekv/l och pH-värdet över 6 (Figur 5). Vi ser däremot att alkaliniteten sjunkit sedan kalkningen 1993. För övrigt visar befintligt material att färgtalet ökat något de senare åren, det vill säga sjön har blivit lite brunare. Syrgashalten är godtagbar i sjön för kräftor och syrgasprofiler under augusti månad 1995-2005 visar på godtagbara syrgasförhållanden ned till 5 meter djup ($> 5 \text{ mg/l}$), medan det är syrefritt på 7 meter djup. Under perioden 1991-2001 var koncentrationen av aluminium alltid mindre än 80 µg/l . Kalciumkoncentrationerna har under perioden 1991-2005 legat mellan $2800\text{-}7600 \text{ µg/l}$ med ett medelvärde på 4800. Dessa koncentrationer, precis som våra analyser, indikerar att kalciumhalten inte är optimal för kräftor men den är inte så låga att de skulle kunna förklara varför beståndet minskar.



Figur 5. pH och alkalinitet uppmätta i Vrången (mitt i sjön) årligen mellan 1991 och 2005. Värdena är från provtagningar någon gång under oktober-mars. Sjön kalkades år 1993.

Slutsatser: Det finns inget i vattenkemin som tyder på att Vrången är försurad eller att förorening skulle vara en rimlig förklaring till att kräftbeståndet minskar. Ej heller finns det koncentrationer av tungmetaller i sjöns vat-

ten eller sediment som skulle kunna påverka reproduktionen negativt hos kräftor. Analyser av fler sediment-prov från andra lokaler i sjön krävs dock för att en säkrare slutsats skall kunna dras.

TIDIGARE ANALYSER AV SJUKDOMAR OCH KÖNSKARAKTÄRER

Kräftor från Vrången har analyserats för *Psorospermium* under flera år (1990-1997 samt 2004) (bilaga 2) men förekomst noterades bara under 1990 och 1992 och då i mycket små mängder. Rapporter om porslinssjuka har inte förekommit, men har troligtvis inte analyserats. Under 2004 analyserades 8 vuxna kräftor från Vrången med avseende på parasitförekomst och könsmognad. Analyserna genomfördes av Dr. Birgit Oidtmann vid "CEFAS" i England (bilaga 3). Kräftorna (hanar) anlände levande i slutet av november, det vill säga efter parningssäsongen. Även om antalet analyserade djur var få kom man fram till att hanarna (2 av 3) hade honliga könskaraktärer (förekomst av ägganlag). Detta fenomen är inte känt tidigare hos flodkräftan, och ej heller för sötvattenskräftor men studier på fisk tyder på att dessa djur har försämrade reproduktionsframgång. Tre kräftor analyserades för kräftpest (med PCR, där DNA för kräftpest ger ett positivt resultat) men detta kunde inte konstateras. Däremot var mängden vävnad som fanns tillgänglig för denna analys liten, precis som antalet djur. Därför kunde det inte uteslutas att kräftpest eller någon annan patogen fanns på kräftorna. Däremot fann man vid mikroskopering tecken på svampinfektion (melanisering på undersidan av stjärten) på 3 av sex kräftor. Detta är typiskt för en tidig infektion av kräftpest.

Slutsats: Det kan inte uteslutas att beståndet har kräftpest eller någon annan parasit som gör att beståndet minskar. Det finns indikationer på att hanar har honliga könskaraktärer. Detta kan förklara varför beståndet minskar. Därför är det viktigt att fler kräftor analyseras. Hög frekvens av porslinssjuka indikerar att sjukdomsförsvaret är nedsatt hos kräftorna.

FISK

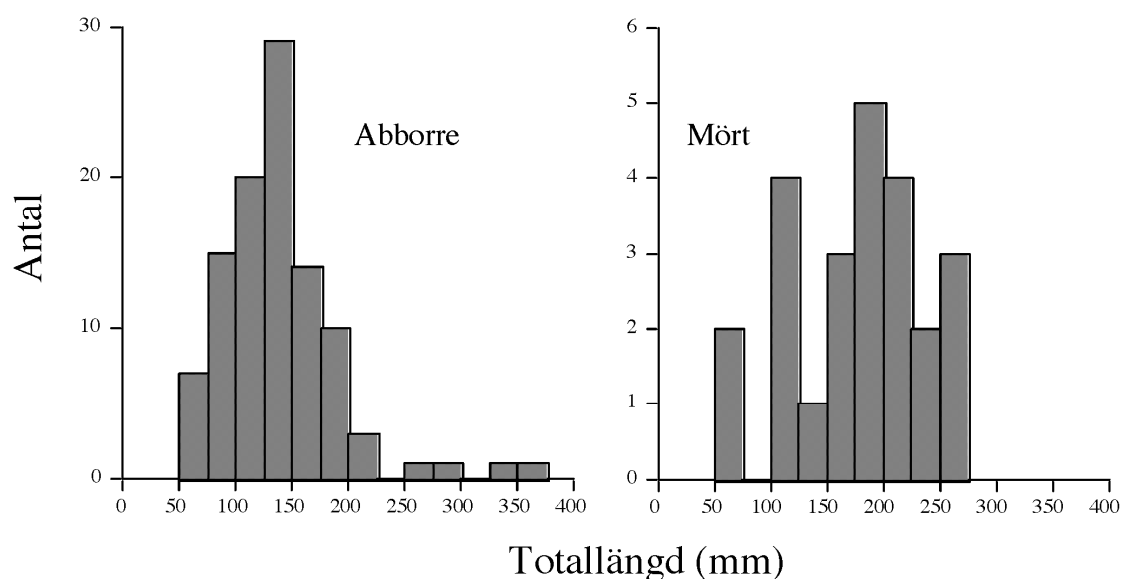
Det finns ett standardiserat provfiske genomfört i sjön den 27-29 juli år 1992. Dessutom finns uppgifter om kvicksilver i gädda från 1986 som analyserats av Livsmedelsverket. I analysen ingick fyra gäddor, 0.85-2.95 kilo. Medelvärde var 0.355 mgHg/kilo fiskkött och halterna är enligt naturvårdsverkets bedömningsgrunder låga. Syftet med provfisket var att se hur fiskpopulationen såg ut innan kalkningen genomfördes. Totalt sattes 32 nät enligt metodik för standardiserat provfiske. Vid fisket fångades abborre, mört, sik, gädda och sutare. Viktmässigt dominerades fångsten av abborre (53%) följt av mört (17 %). Längdfördelningen av mört kan ge indikationer på förurningspåverkan och vid provfisket fångades ett stort antal mörtar som var kring 70 millimeter vilket indikerade reproduktion, åtminstone under 1991.

För att få en uppfattning om fiskbeståndets sammansättning och eventuell förurningspåverkan sattes tre provfisker ut (översiktslänkar, Bilaga 1). Samtidigt ville vi se om abborren hade konsumerat kräftor och om möjligt få indikationer på förekomsten av småkräftor.

Resultaten visade precis som vid provfisket 1992 att abborre dominerade viktmsätt (67 %) följt av mört (27 %) och sik (7 %) (Tabell 5). Storleksfördelningen av mört visar att det har skett reproduktion i år. Antalet fångade små mörtar var däremot förhållandevis få (Figur 6).

Tabell 5. Statistik för fisk i Vrången fångade i tre stycken översiktslänkar den 2- 3 september 2006 (12 timmar). Medeldjupet för näten var 2,4, 2,4 och 4,8 meter. Nästens position i sjön framgår av Bilaga 1.

	Antal	F/A (antal)	% (antal)	Vikt (g)	F/A (vikt)	% (vikt)	Medellängd (mm)	Min (mm)	Max (mm)
Abborre	102	34,0	79,7	4127	1376	66,6	136	57	350
Mört	24	8,0	18,8	1656	552	26,7	178	51	252
Sik	2	0,7	1,6	413	138	6,7	292	292	293
Totalt	128	42,7	100	6196	2066	100	-	-	-



Figur 6. Storleksfördelning av abborre och mört fångade i tre översiktslänkar i Vrången den 2-3 september 2006.

Tidigare undersökningar har visat att när abborren blir 150 millimeter kan den börja äta kräftor och fisk. Vi analyserade maginnehållet i de 25 abborrar vi fångade som var minst 15 centimeter. Av dessa hade 9 stycken tomma magar. I de abborrar som hade något i magen fann vi kräfta i två. En abborre som var 350 millimeter lång hade ätit en 6 centimeter lång kräfta och den andra abborren som var 250 millimeter lång hade ätit två kräftor, på 6 respektive 7 centimeter. Andra byten som förekom ofta i magarna var fisk, dagsländor (bland annat *Ephemera danica*) och sävländor (*Sialis* sp).

Ephemera danica har enligt naturvårdsverkets bedömningsgrunder ett indikatorvärde på att $\text{pH} \geq 5.4$

Slutsats: Det förekommer reproduktion av mört och därmed är sjön inte särskilt föroreningspåverkad. Förekomst av 6 centimeter långa kräftor i abbormagar tyder på att reproduktion av kräftor skett åtminstone för 2-3 år sedan.

VEGETATION OCH BOTTENFAUNA

Hävning efter bottenfauna i litoralzonen genomfördes och botten undersöktes med hjälp av snorkling mitt på dagen den 2 september på samma lokal (Bilaga 1). Snorkling skedde i ett litet område (50 meter strandlinje ut till 3 meter djup). Vegetationen som noterades var

typisk för näringsfattiga sjöar, till exempel notblomster, styvt braxengräs, vekt braxengräs, hårslinga, gropnate, gäddnate och gul näckros. Enstaka förekomst av en kransalg noterades också. Vid snorklingen observerades vare sig kräftor eller fisk, men riklig förekomst av dammussla (*Anodonta cygnea*) på djup över 2 meter. Det allmänna intrycket var att det fanns förhållandevis mycket påväxt och organiskt material på stenar och växter. Vid håvningen fångades bland annat stor dammsnäck (*Lymnaea stagnalis*) av olika storlekar, men även ärtmussla (*Pisidium*). För övrigt fångades sötvattensgråsugga (*Asellus aquaticus*), dagsländor (*Baetis* sp.) dykarbaggar (till exempel ärtdykare och *Agabus* sp.), samt flicksländor.

Slutsats: Eftersom det finns snäckor och musslor i sjön som dessutom inte är mjuka i skalet, tyder detta inte på någon försurningspåverkan.

Avslutande kommentarer och rekommendationer

De flesta undersökningar tyder på att kräftpopulationer som inte är drabbade av kräftpest regleras genom överlevnad under yngelstadiet. De viktigaste slutsatserna vi kan dra av materialet vi haft tillgång till är följande:

- 1) Flodkräftbeståndet har minskat successivt och en fångst på mindre än 1 kräfta per märke år 2006 är betydligt lägre än vad man kan förvänta sig i en sjö med stenrika bottenar. Fångsten borde vara 4-8 kräftor per märke som den var i början av 1990-talet.
- 2) Försurning är ingen förklaring till att beståndet minskat. Såväl vattenkemin i sjön, reproduktion av mört samt förekomsten av snäckor och musslor styrker detta.
- 3) Det finns indikationer på att reproduktionen hos kräftorna kan vara nedsatt eftersom det finns hanar med honliga könsskarakterer (år 2004). Däremot visar vårt provfiske att frekvensen av könsmogna djur är normal. Det finns en rad olika metaller, hormoner och organiska miljögifter som kan orsaka uppkomsten av sekundära könsskarakterer. Vi har inte funnit att det finns någon kontinuerlig källa för tillförsel av dessa ämnen i Vrångens avrinningsområde. Om det har skett utsläpp är det snarare ett punktutsläpp eller en dumpning som inte är känd. Våra analyser av vatten och sediment (om än begränsade i tid och till en lokal) indikerar att metaller inte bör vara en bidragande orsak till kräftornas symtom. Analyser av metaller i sediment från fler lokaler i sjön rekommenderas.
- 4) Nya forskningsrön visar att kräftpest förekommer hos flodkräftor och att de dessutom kan överleva med pesten ett tag, men att sjukdomen har en negativ påverkan på bestånden. Analyser av några kräftor från Vrången (hösten 2004) kunde varken styrka eller utesluta kräftpest.

Vi bedömer att det i nuläget finns två möjliga orsaker till att beståndet minskar, dels förekomsten av sjukdomar (kräftpest) och dels störd reproduktion, men varför denna reproduktionsstörning skulle förekomma är inte känd. Det finns inga kända källor för detta i avrinningsområdet. Vi ger nedan rekommendationer för att ta reda på orsaken till att beståndet minskat och möjligen få det att öka igen.

Det är viktigt att snarast möjligt undersöka om beståndet har kräftpest och om reproduktionsframgången är nedsatt. Vi har konserverat 21 kräftor för framtida sjukdomsanalyser och fysiologiska undersökningar. Sjukdomsanalys och analyser av sekundära könskaraktärer kan göras av Dr. Birgit Oidtmann som vi varit i kontakt med och som gjort analyser av kräftor från Vrången tidigare. Vi har också kontakter Dr. Trude Vrålstad som är mykolog och forskar vid veterinärinstitutet i Oslo sedan 2005. Hon ansvarar bland annat för kräftpestanalyser i Norge. Hon arbetar efter Birgit Oidtmanns protokoll och PCR metod men har gått ett steg längre genom att även sekvensera DNA för att vara 100 % säker på att man har hittat kräftpest. Skillnaden mellan metoderna är inte så stor. Det är när man erhållit ett positivt svar av PCR som det kan vara viktigt att gå vidare med DNA sekvensering för att vara helt säker på att det är kräftpest. I så fall kan Trude Vrålstad även kvantifiera mängden DNA av kräftpest som finns i kräftan, dvs graden av infektion. Enligt Trude Vrålstad är hennes metodik perfekt vid liten infektionsgrad (små DNA mängder). Däremot kan man inte i Norge göra alla de fysiologiska undersökningar som Birgit Oidtmanns lab klarar av. Det krävs specialtillstånd för att skicka kräftmaterial till Norge, men det kan man hjälpa till med om det blir aktuellt att skicka kräftor dit. Kostanden för kräftpestanalys är cirka 800 kr + moms per kräfta.

Vi rekommenderar att först köra analyser på Birgit Oidtmanns lab av såväl kräftpest som fysiologi. Om man finner kräftpest på kräftorna med Birgit Oidtmanns metod eller att DNA-mängden bedöms vara otillräcklig kan det vara värt att skicka några kräftor till Norge, eftersom deras metod enligt Trude Vrålstad nog är känsligare. Även om Birgit Oidtmann helst undersöker levande kräftor för andra parasiter och fysiologiska karaktärer rekommenderar vi att genomföra analyser på det konserverade materialet omgående eftersom analys av sekundära könskaraktärer bör ske i samband med könsmognaden, det vill säga september-oktober vilket kräver att nya kräftor fångas in. Som ett komplement till rent fysiologiska undersökningar av kräftornas könskaraktärer föreslår vi att förekomsten av proteinet vitellogenin analyseras. Enligt Birgit Oidtmann kan deras lab tänka sig att ta fram ett protokoll, det vill säga metodiken för detta. Man har redan erfarenheter av dessa analyser på fisk. I realiteten ligger detta tidsmässigt för kräftor kanske i slutet av 2007. Resultaten från dessa analyser bör kunna ge ytterligare information om statsusen på kräftbeståndet och framtida åtgärder. Om det inte kan konstateras kräftpest på beståndet finns det fortfarande möjlighet att restaurera beståndet, således väldigt viktig information.

ÄR KRÄFTORNA I VRÅNGEN FERTILA?

En annan kompletterande möjlighet att bestämma reproduktionsframgången hos flodkräftorna i Vrången är att göra korsningsförsök med flodkräftor från andra populationer och följa upp detta på olika sätt. Problemet kan vara att få tag i tillräckligt många kräftor från Vrången.

- 1) Låt hanar från Vrången para sig dels med honor från en kontrollpopulation och dels med honor från Vrången. Förvara honorna i sumpar i Vrången och följ utvecklingen från romsättning till kläckning (oktober till juni).
- 2) Låt hanar från en kontrollpopulation para sig dels med honor från Vrången och dels med honor från kontrollpopulationen. Förvara honorna i sumpar i Vrången och följ utvecklingen från romsättning till kläckning (oktober till juni).
- 3) I maj månad 2007 används dykning och fiske för att få en uppfattning om hur stor andel av kräfthonorna i Vrången som bär rom/tappat sin rom. Honor som tappat

sin rom kan fångas i mjärdar men har fortfarande ”trådarna” kvar där rommen har fästs.

- 4) Eftersom vi inte kunde observera några årsyngel vore det bra om man kunde konstatera om det sker reproduktion överhuvudtaget i sjön idag. Ett sätt är att lägga ut t ex potatissäckar (plast) fyllda med skydd som brukar attrahera kräftyngel.

MILJÖGIFTER

Vi kan konstatera att det finns en rad organiska miljögifter som kan ge upphov till sekundära könskaraktärer. Därför föreslår vi analyser av miljögifter i sediment, fisk, flodkräftor och musslor för att få en uppfattning om detta kan vara förklaringen till uppkomsten av sekundära könskaraktärer hos kräftorna i Vrången. Mört, sik och musslor finns infrusna. Analyser av PCB, PAH, DDT, DDE kan bland annat utföras på Ekotoxikologiska avdelningen vid Lunds Universitet. Man har god erfarenhet av att köra såväl fisk som kräftor.

FISK

Eftersom det finns en metod framtagen för analyser av vitellogenin i fisk kan detta ge ett tidigare svar än vad analyser av kräftor kan göra (metodiken ej färdig ännu). Rekommendationen är att undersöka såväl könsorganen som förekomsten av vitellogenin i mört. Eftersom siken skall bevaras i sjön och det finns indikationer från fiskevårdsområdet på att siken har minskat kan det vara lämpligt med ett standardiserat provfiske efter fisk i sjön. Från detta kan man kanske också få indikationer om rekryteringen av t ex mört är normal.

STÖDUTSÄTTNING

Det kan ju vara så att det finns andra förklaringar till minskningen som vi inte känner till, t ex genetiska defekter hos flodkräftorna i Vrången som gör att de inte reproducerar sig. Därför skulle man kunna tänka sig att göra en utsättning av kräftor (lämpligen i den avgränsade viken där vi genomfört snorkling mm). Man bör sätta ut småkräftor (mer stationära än vuxna), men man kan också tänka sig att sätta ut större kräftor som märks med fluorescerande färg i stjärtmuskeln för att kunna bedöma om det är utsättningskräftor eller andra kräftor som fångas senare.

FRAMTIDEN

Även om flodkräftbeståndet i Vrången blir glesare och glesare finns det inget som tyder på att signalkräftan skulle klara sig bättre i Vrången om det nu är så att reproduktionen är störd av exempelvis miljögifter. Därför är det viktigt att ta reda på om flodkräftorna i Vrången verkligen har nedsatt fertilitet och om detta beror på något som har med sjöns vattenkvalitet att göra. För övrigt har Vrången med sitt isolerade läge, få tillflöden och stänga bottnar goda förutsättningar att hysa ett bra flodkräftbestånd.

Tack

Vi vill främst tacka Fagerhultasjön och Vrångens fiskevårdsområde för gott samarbete. Speciellt tack till Sven-Olof Sandberg för lån av stuga och hjälp i samband med provfiske.



Referenser hormonella störningar

Linderöth, M. 2006. Biochemical characterisation of landfill leachate toxicity in fish. PhD-thesis. Stockholm University.

Manning, T. 2005. Endocrine-disrupting chemicals: A review of the state of the science. *Australasian Journal of Ecotoxicology* 11:1-52.

McDonald, K.K., Gross, T.S., Denslow, N.D. & Blazer, V.S. 2000. Reproductive indicators. In *Biomonitoring of environmental status and trends (BEST) program: selected methods for monitoring chemical contaminants and their effects in aquatic ecosystems*. Ed. Smith, C.J. & Dethloff, G.M.

Mills, L.J. & Chichester, C. 2005. Review of evidence: Are endocrine disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations? *Science of the total environment* 343:1-34.

Milnes, M.R., Bermudez, D.S., Bryan, T.A., Edwards, T.M., Gunderson, M.P. Larkin, I.L.V., Moore, B.C. & Guillelte Jr, L.J. 2006. Contaminant-induced feminization and demasculinization of nonmammalian vertebrate males in aquatic environments. *Environmental research* 100:3-17.

Sagi, A., Khalaila, I., Barki, A., Hulata, G. & Karplus, I. 1996. Intersex red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens): Functional males with pre-vitellogenic ovaries. *Biological Bulletin* 190:16-23.

Sumpter, J.P. 2005. Endocrine disruption in the aquatic environment: An overview. *Acta hydrochim. Hydrobiol.* 33:9-16.

Triebskorn, R., Adam, S., Casper, H. Honnen, W., Pawert, M., Schramm, M., Schwaiger, J. & Köhler, H-R. 2002. Biomarkers as diagnostic tools for evaluating effects of unknown past water quality conditions on stream organisms. *Ecotoxicology* 11:451-465.

Använda källor och referenser

PM och rapporter

Appelberg, M. (1986): The crayfish *Astacus astacus* L. In acid and neutralized environments. Doktorsavhandling, Uppsala universitet.

Halldén, Anton. Fiskerikonsulent, Länsstyrelsen i Jönköpings län. Flodkräftorna i Vrången: Vad vet vi?

Länsstyrelsen i Jönköpings län. 2001. Kräftpöfvisken i Jönköpings län 2000. Meddelande nr 2001:10.

Länsstyrelsen i Jönköpings län. 2004. Kräftpöfviske 2002 och 2003. Meddelande nr 2004:20.

Naturvårdsverket. 2000. Bedömningsgrunder för miljökvalitet i Sjöar och vattendrag. Rapport nr 4913.

Länsstyrelsen i Jönköpings län. 2006. Bevarandeplan för Natura 2000-område. Vrången (SE0310338).

Oidtmann, B., Schmid, I., Rogers, D., & Hoffmann, R.W. 1999. An improved isolation method for the cultivation of the crayfish plague fungus, *Aphanomyces astaci*. Freshwater Crayfish 12:303-312.

Viljamaa-Dirks, S., & Heinikainen, S. 2006. Clinical evidence of chronic crayfish plague (*Aphanomyces astaci*) infection in noble crayfish (*Astacus astacus*) populations. Muntlig presentation vid den internationella kräftkonferensen i Australien (IAA16).

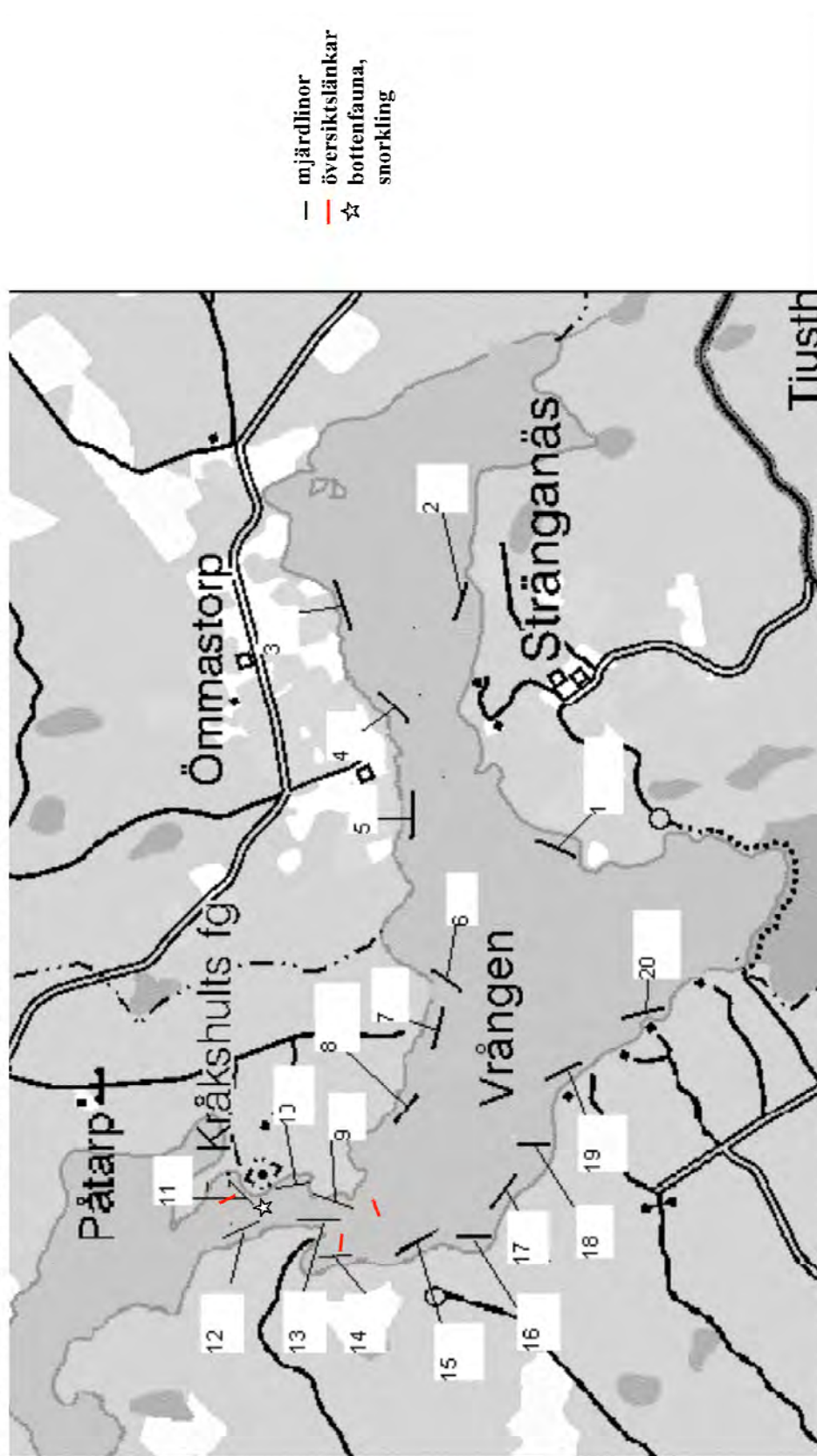
Muntlig information

Sven-Olof Sandberg och Christer Adolfsson, Vrångens fvo
Trude Vrålstad, veterinärinstitutet i Oslo (trude.vralstad@vetinst.no)

Bilaga 1

Bilaga 1

Placering av linor med kräftmjärdar, översiktstänkar samt lokal för provtagning av bottenfauna, snorkling och nattliga observationer av kräftor. Bakgrundskarta är hämtad från "Kräftprovfske I Jönköpings län 2002 och 2003"



Bilaga 2



Fiskavdelningen

Kund: 166567

Fagerhultasjön/Vrången FVO
Sven Olof Sandberg, Ekekull 8
574 93 VETLANDA
SVERIGE



RAPPORT

1 (2)

utfärdad av ackrediterat laboratorium
REPORT issued by an Accredited Laboratory

1553
ISO/IEC 17025

Uppdragsnummer: 040708131
Labnr.: SVA 35

Ankomstdatum: 04-07-08
Besvarat den: 04-08-11
Utskriftsdatum: 04-08-11

INSÄNT MATERIAL OCH UTFÖRDA UNDERSÖKNINGAR

Djur: Flodkräfta Årsklass: ??

Antal fiskar: 5

Undersökningsmaterial	Antal	Undersökning	Antal
Hel djurkropp	5	Provuttag	5
Hjärta	5	Direktmikroskopi för parasiter	5
Hud m m (ej specificerat)	5	Direktmikroskopi för parasiter	5
Nerv	5	Direktmikroskopi för parasiter	5
Muskulatur	5	Direktmikroskopi för parasiter	5

Ackrediterade undersökningar utmärkes med asterisk (*)

UTLÅTANDE

UNDERSÖKNING AVSEENDE PSOROSPERMIUM PARASIT FÖREKOMST

Material: Flodkräfta, 5 stycken (4 honor, 1 hane), längd: 7,5 - 10 cm, rödspriftfixerade.

Utlåtande: Inga Psorospermium parasiter påvisade.

Kommentar:

Spriftfixerade kräftor är mindre lämpade för Psorospermiumundersökning, vilket kan innebära att en sparsam förekomst av Psorospermiumparasiter ej kan detekteras med den nu använda standardtekniken (mikroskopieringsteknik).

För övrigt hänvisas till tidigare telefondiskussion avseende bl.a. insändning av levande/färska kräftor för porrsinssjuka-undersökning.

T. Hongslö

Handläggare: Jan Härdig

STATENS VETERINÄRMEDICINSKA ANSTALT

Postadress SE-751 89 Uppsala

Tel +46 (0)18 67 40 00, Fax +46 (0)18 30 91 62.

E-post sva@sva.se, Internet www.sva.se

Org.nr 03-202100-1868-01, EU VAT No. SE202100186801

Laboratorier ackrediteras av Styrelsen för ackreditering och teknisk kontroll (SWEDAC) enligt svensk lag. Den ackrediterade verksamheten vid laboratoriet uppfyller kraven i SS-EN ISO/IEC 17 025 (2000).

Denna rapport får endast återges i sin helhet, om inte utfärdande laboratorium i förväg skriftligen godkänner annat.

Förteckning över ackrediterade metoder vid SVA kan hämtas via Internet eller beställas från SVAs Informationsavdelning.

Bilaga 3



The Centre for Environment, Fisheries & Aquaculture Science
Weymouth Laboratory, Barrack Road, The Nothe,
Weymouth, Dorset DT4 8UB UK
Tel: +44 (0) 1305 206600 Direct: +44 (0) 1305 20
Fax: +44 (0) 1305 206601 Email:
<http://www.cefass.co.uk>

Dr. Lennart Edsman
Institute of Freshwater Research
National Board of Fisheries
SE-178 93
Drottningholm
Sweden

Our Ref: C2388

25 January 2005

Causes of population decline in noble crayfish in lake "Vrången", Sweden.

Dear Lennart,

below please find the report of the findings from the investigation of the above-mentioned crayfish.

Record No. 04098

Arrival of crayfish at laboratory: 17th of November 2004

Date of post mortem: 25th and 26th of November 2004

Crayfish delivered: 8 noble crayfish (*Astacus astacus*) from lake "Vrången", Sweden; externally males; weight: 19.4 - 43.2 g; total body length: 85 - 102 mm, cephalothorax length: 45 - 52 mm.

For the investigation full post mortem was performed on 6 animals; the 2 other animals were fixed in buffered formalin in whole after euthanasia to allow investigation of specific tissues and were therefore not available for assessment of macro-morphological internal alterations or fresh preparations.

Summary of external findings:

All animals: external reproductive structures suggest that all animals investigated were males (gonopods and male gonopores present). Gonopods light in colour (suggesting recent use); in some animals spermatophores attached to the ventral side of the body.

Animals 1 -2, 4, 6, and 8 without external lesions. ?

Animal 3: in two locations dorsal carapace bulged outwards by approx. 1 mm in a circumscribed area of 1 - 2 mm.

Dorsocaudal carapace: 2 cuticle lesions with substance loss but non-perforating, approx. 2 and 3 mm in diameter respectively.

On the right lateral side of the carapace: perforating lesion, 8 mm x 1 mm, opening into the gill chamber.

Animal 5: dorsal abdomen: 2 brownish discolorations with red margins; diameter 3 mm x 6 mm.



CEPAS is an Executive Agency of DEFRA



INVESTOR IN PEOPLE

Animal 7: dorsal carapace bulged outwards by approx. 1 mm in a circumscribed area of 1 – 2 mm.

Internal macroscopical findings:

Reproductive tract: In all animals: size of gonads reduced (season related), vas deferentia reduced in volume (season related).

Digestive tract:

Stomach and hindgut in all animals without pathological findings.

Hepatopancreas: Sporadic circumscribed melanised areas in animals 2, 3 and 4.

All other organs without significant findings.

Parasitological examination:

Presence of peritrich epibionts, belonging to suborder Sessilina, were recognised in 4 out of 6 animals. Infestation rate was mild to medium. No indication of any other parasite infestation.

Microscopical findings:

Exoskeleton:

Fresh preparations of the soft abdominal cuticle reveal multiple small melanised areas (diameter approx. 10 µm) in 3 out of 6 animals, which are consistent with the morphology of early infection of *Astacus astacus* with *Aphanomyces astaci*.

Patho-histological investigation:

Specimen 3:

a) Histology of area surrounding the perforating lesion of the cuticle on the right lateral side of the animal: extensive melanisation of the border of the lesion extending approx. 300 µm. Complete lysis of the exocuticle and partly of the endocuticle in the surrounding the gap. Cuticle in this area infested with unidentified cells.

b) Non-perforating lesions: cuticle extremely thin. No indication of pathogen invasion or inflammatory response.

Specimen 5:

a) Ectopla of endocuticle underneath the basal lamina of the epithelium-cell-layer in one location, diameter approx. 80 µm, circular in shape; endocuticle surrounded by epithelium-cells.

Above this area: Cuticle hyperplasia and infestation of the cuticle with presumably fungal / protist organism. In this area also: extended melanisation. Borderline between endo- and exocuticle in this area vacuolated.

b) In a different location focal lysis of endocuticle over a stretch of approx. 20 µm; endocuticle replaced by cells and cell debris.

c) Lysis of the epicuticle in one location over a stretch of approx. 20 µm. Hyperplasia of endocuticle in this area.

Respiratory tract:

Fresh preparations: Animal 3: extended circumscribed melanisations of a few gill filaments; focal hyphal infestation on the right sided gills, morphological features of the agent consistent with an Oomycete.

Circular (round) melanisations in animals 3 and 4; possibly related to epibiont infestation.

Patho-histological investigation: no significant findings.

Reproductive tract:

Patho-histological investigation

Gonads were sampled for histological examination from 3 animals.

In two out of those 3 animals the gonads were found to be ovotestes (carrying both active testicular components and Oocytes in a previtellogenic stage). Vas deferentia contain spermatozoa and spermatophores.

Digestive tract:

Fresh preparations:

Hepatopancreas: singular tubules fully melanised in animals 2, 3 and 4.

Patho-histological investigation

Hepatopancreas:

Sporadic melanisation of hepatopancreatic tubules in animals 2, 3 and 4.

Animal 3: sporadic intranuclear inclusion bodies, possibly of viral origin.

Investigation for bacterial infestation:

Samples for bacteriological investigation were taken from 5 specimens.

The following bacteria were isolated in significant numbers

Crayfish 1

Muscle tissue:

Pure growth of Staphylococcus species

Antennal gland: pure growth of unidentified Gram-negative bacteria

Crayfish 3

Muscle tissue:

Hafnia alvei (+++),

Shewanella putrefaciens (++)

Aeromonas hydrophila/caviae (+)

Hepatopancreas:

Hafnia alvei (+++),

Aeromonas hydrophila/caviae (++)

Shewanella putrefaciens (+)

Antennal gland:

Hafnia alvei (+++)

Aeromonas hydrophila/caviae (++)

Haemolymph: no growth

Crayfish 6

Hepatopancreas: Hafnia alvei isolated in significant numbers from pure growth.

PCR results:

DNA was extracted and PCR performed on samples from 3 crayfish.

Samples investigated were collected from those specimen showing small melanised areas consistent with the morphology of early infection of *Astacus astacus* with *Aphanomyces astaci* and from the gills of one specimen with hyphae infestation.

In all cases PCR was negative, i.e. no DNA of *Aphanomyces astaci* or any other protist or fungus was amplified.

Interpretation of findings:

In the population in question a slow decline in the population has been observed over a number of years. Findings observed in the animals investigated give some indication as to what the problem within the population might be attributed to.

The two main findings in these animals are:

1. Feminisation of male gonads
2. Various pathological lesions of cuticle in 3 out of 8 animals; potential infection of cuticle with unidentified pathogen in several animals – potentially a protist infection.

Furthermore several other findings were made:

3. Infestation of gills with hyphae in one specimen, morphology consistent with saprolegnoid species
4. Intranuclear inclusion bodies in the hepatopancreas of one animal, cause yet unidentified - potential viral infection
5. Melanisation of hepatopancreatic tubules
6. Systemic bacterial infection in some animals

Ad 1. Feminisation of male gonads

The external reproductive structures of the animals investigated suggested that they were males (gonopods and male gonopores present). However, in 2 out of 3 animals, from which gonads were sampled for histology, Oocytes were found. The overall structure of the gonads suggests that the animal's gonads were initially male.

There have been a few reports about gynandromorphism in crayfish. Gynandromorphism appears to be quite frequent among Parastacoidea. Most reports however rely on the presence of both female and male gonopores in a single animal; there is very limited information regarding whether the gonads of such animals were truly both testes and ovary. In the family of Astacidae, to which *Astacus astacus* belongs to, reports on intersexes (based on gonopores) are very rare and reports on intersexes based on gonads are missing. In the available literature, there are no reports on intersexes of any kind in *Astacus astacus*. So this is a truly unusual finding.

Whether at all and if to what degree animals with ovotestes are restricted in their reproductive capacity is difficult to say. However, the experience from similar findings from fish strongly suggests that the reproductive ability of those animals is substantially affected.

The causes of intersexes in crustaceans are not well understood. There is indication that an ingredient of antifouling paint for boats and ships could have this effect, whereas contamination of the aquatic environment with vertebrate steroids seem to not interfere with the gonads in crustaceans. However, there is only very limited information available on the causes of endocrine disruption in invertebrates. Therefore, one can only speculate about the cause of the development of ovotestes.

To get a better idea of the extent of the problem, I would strongly suggest that further animals – preferably from both sexes – are investigated for alterations of their gonads.

Ad 2. Various pathological lesions of cuticle in 3 out of 8 animals; potential infection of cuticle with unidentified pathogen in several animals – potentially a protist infection.

Several pathological lesions of the exoskeleton have been found in 3 out of 8 animals. The location of the findings suggests that they are rather unlikely to be the result of intraspecies competition fights during the breeding season.

In some of those lesions there was indication of the presence of a pathogen being involved, possibly a protist / fungal infection. Unfortunately the amount of tissue available for PCR was too small in order to obtain sufficient amounts of DNA from the potential pathogen. Due to the limited number of animals the material from some animals had to be used for histology, some for PCR and other for Electron microscopy. In a follow up study, we would suggest to investigate more animals, such that lack of material does not restrict what findings can be made.

In some cases, where pathological findings of the cuticle were made, presence of an infestation was not noted. So there is a possibility that multiple causes are responsible for the lesions found.

The lack of amplification of DNA in the case of the melanised spots is likely to be due to insufficient amounts of DNA present in the tissue sampled. If the amount of DNA present in the tissue sampled was from a singular or a few cells only, amplification from such small amounts of DNA would be extremely difficult. The observations made in the fresh preparations suggested that only one or very few cells were present; furthermore the melanisation of the cuticle in this area could have potentially damaged the cells and also contributed to an inhibition of the PCR itself. Therefore it cannot be concluded that *A. astaci* or another pathogen was absent.

Ad 3. Infestation of gills with hyphae in one specimen; morphology consistent with saprolegnoid species

This could be just an incidental finding since it was observed in only one of the animals investigated; only an investigation of a larger batch of animals will allow to give a more profound interpretation. However, this finding could be connected to the alterations found in the soft abdominal cuticle, which are consistent with an infection of *A. astaci*.

DNA extraction from the infested gills was difficult due to technical reasons; therefore it is suspected that insufficient breakdown of the tissue is the cause of insufficient amounts of DNA extracted for successful PCR.

Ad 4. Intranuclear inclusion bodies in the hepatopancreas of one animal, cause yet unidentified - potential viral infection

Since the inclusion bodies appeared in one animal only and was affecting only a few cells of the hepatopancreas, this is unlikely to be a dominating problem, and is more likely to be an incidental

finding. Further hepatopancreatic tissue is presently processed for electron microscopy. Findings will be reported at a later date.

Ad 5. Melanisation of hepatopancreatic tubules

By histological examination it was not possible to detect what had initiated the melanisation. By the fact that melanisation is present, it cannot be concluded what it was caused by. Melanisation is a general response of the crayfish innate immune system against several pathogens. Furthermore, the melanised tubules were already fully melanised, meaning that the process could have already occurred some time ago.

Ad 6. Systemic bacterial infection in some animals

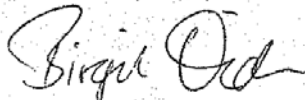
There is only very little information published on bacterial infections in crayfish and the relevance of infections with particular bacteria is not well understood. The bacterial infections can evolve as an effect of stress. Since the animals have been transported and kept outside their natural environment, the animals have certainly been stressed.

Both *Aeromonas hydrophila*, *Hafnia alvei* and *Shewanella putrefaciens* are typical bacteria cultivated from animals exposed to rearing or transport stress. Therefore it is quite possible that the bacteria were isolated as a consequence of that.

To summarise, the feminisation of male gonads appears to be the most striking finding, which might be associated with the observed decline of the population. Furthermore, other pathological findings made could also be factors contributing to the decline.

We suggest that further animals are investigated in order to get a better impression of the prevalence of intersexes within the population, to identify the cause of the various cuticle pathologies found and to develop a better understanding to which degree those and the other findings contribute to the observed decline of the population.

Yours sincerely,



Dr. Birgit Oldtmann

Del 2

Beståndstatus och reproduktion hos flodkräfta i Vrången och Fjärasjö

30 oktober 2007



13 maj 2008



13 juni 2008



Ekoll HB, 2008

Per Nyström och Marika Stenberg

på uppdrag av Länsstyrelsen i Jönköpings län

Innehållsförteckning

Sammanfattning.....	43
Bakgrund	44
Syfte.....	45
Metoder och genomförande.....	45
Sjukdomsanalyser	45
Provfiske och kontroll av tidigare utsättningsresultat	46
Reproduktionskontroll	46
Resultat.....	49
Sjukdomsanalyser	49
Provfiske och kontroll av tidigare utsättningsresultat	49
Reproduktionskontroll	49
Slutsatser	53
Tack	54
Referenser.....	55
Bilaga 1	56

Sammanfattning

Flodkräftbeståndet i sjön Vrången utgör ett av väldigt få flodkräftbestånd i Jönköpings län. I en utvärdering år 2006 kom vi fram till att beståndet minskat kraftigt sedan mitten på 1990-talet. Två möjliga förklaringar till denna minskning ansågs rimliga med det underlag som fanns att tillgå. Dessa var kronisk kräftpest (som man i Finland funnit på flodkräftor) eller möjligen reproduktionsstörningar, om än av okänd orsak, eftersom försurningseffekter kunde uteslutas. Eftersom man inte kunde utesluta att nedgången berott på nedsatt reproduktion hos kräftorna rekommenderades även en utsättning av nytt genetiskt material, vilket skedde på en lokal hösten 2006 (totalt cirka 1000 kräftor av olika storlekar).

Syftet med denna rapport är att redovisa det fortsatta arbetet med att få tillbaka ett livskraftigt och fiskbart flodkräftbestånd i Vrången. Rapporten innehåller resultat av kräftpestanalyser från kräftorna som fångades vid provfisket år 2006. Vi redovisar även observationer gjorda i samband med provfisket under hösten 2007 samt resultatet från ett fältexperiment där reproduktionsframgången kontrollerades på flodkräftor i Vrången samt flod- och signalkräftor i en närbelägen sjö, Fjärasjö.

Resultaten från sjukdomsanalyserna visade att inga av de 21 flodkräftorna som fångats i Vrången vid provfisket hösten 2006 hade kräftpest. Provfisket och observationer på utsättningsplatsen hösten 2007 kunde inte påvisa att det fanns flodkräftor kvar i Vrången, vilket var ett mycket nedslående resultat. Vi fångade eller observerade inte heller några signalkräftor.

Reproduktionskontrollen kunde därför inte genomföras med flodkräftor från ursprungspopulationen i Vrången. Därför erhöles tillstånd från Länsstyrelsen att genomföra reproduktionskontroll (och även överlevnadskontroll) med flodkräftor från en närbelägen sjö, Fjärasjö som dessutom har ett mindre bestånd av signalkräfta. När kräftor till reproduktionsförsöket fiskades in från Fjärasjö, i september 2007, erhöles 168 flodkräftor samt 14 signalkräftor i 35 mjärddar. Försöket med reproduktionskontroll skedde i burar placerade i de två sjöarna. I Vrången placerades två burar med flodkräftor och i Fjärasjö två burar med flodkräftor samt en bur med signalkräftor. Burarna var 1 m² stora. I september placerades könsmogna hanar (4 stycken) och honor (7-8 stycken) i varje bur. I slutet av oktober kontrollerades romsättningen, varefter hanarna togs bort och honorna lades tillbaka i burarna. Romsättningen kontrollerades därefter i maj år 2008, då varje hona placerades i en individuell kläckback i sjöarna. Denna var konstruerad så att eventuella yngel inte skulle kunna rymma. Resultaten visade att såväl flod- som signalkräftor kunde reproducera sig normalt i Fjärasjö. Även om det var något sämre kläckningsframgång i Vrången än i Fjärasjö var kläckningsresultatet acceptabelt. Vid reproduktionskontrollen i juni räknades det i genomsnitt 70 yngel/ägg på honorna i Vrången, motsvarande siffror för Fjärasjö var cirka 108 stycken (113 för signalkräftorna).

Baserat på denna studie drar vi slutsatsen att det finns idag inget som tyder på att flodkräftan inte skall kunna reproducera sig i Vrången, och att ett livskraftigt bestånd av flodkräfta skulle kunna byggas upp. En återutsättning av flodkräftor bör dock inte ske förrän orsaken till att beståndet försvann efter 2006 har klarlagts. Det kan uteslutas att de utsatta flodkräftorna hösten 2006 var pestsmittade, eftersom beståndet de kom ifrån fortfarande lever. Det krävs därför att ett fiske genomförs över hela sjön för att undersöka om signalkräftor finns i Vrången. Om inga signalkräftor fångas bör man dock hålla flodkräftor sumpade i olika de-

lar av sjön innan en ny utsättning av flodkräftor görs. Detta bör göras under en längre tid, helst över vinter och vår.

Bakgrund

Flodkräftan är en starkt hotad art i Sverige men där den finns har den stor betydelse för det fiskevårdsarbete som bedrivs inom många fiskevårdsområden. Flodkräftbeståndet i sjön Vrången utgör ett av väldigt få flodkräftbestånd i Jönköpings län. Med anledning av detta och att beståndet verkade ha minskat sedan 90-talet genomförde vi på uppdrag av Länsstyrelsen i Jönköpings län en utvärdering (Del 1 i denna rapport). Syftet med utvärderingen var främst att utreda orsaken/orsakerna till att beståndet av flodkräfta i sjön Vrången verkade minska. I uppdraget ingick även att föreslå åtgärder och kompletterande undersökningar för att om möjligt få beståndet att öka. Utvärderingen baserades på ett standardiserat kräftprovfiske i sjön år 2006 samt sammanställning av befintligt material. Detta material var information från Länsstyrelsen i Jönköpings län och fiskevårdsområdet om bland annat vattenkemi (1991-2005), hälsokontroller på kräftor (1990-2004) samt resultat från tidigare kräft- och fiskprovfisken (1992-2003).

I vår utvärdering av flodkräftbeståndets status i sjön Vrången konstaterade vi följande:

- 1) Flodkräftbeståndet har minskat successivt sedan 1993 och en fångst på mindre än 1 kräfta per mjärde år 2006 var den lägsta fångsten någonsin i Vrången och betydligt lägre än vad man kan förvänta sig i en sjö med förhållandevis goda bottnar för kräftor. Fångsten borde vara i storleksordningen 4-8 kräftor per mjärde, vilket den var i början av 1990-talet.
- 2) Försurning av sjön var ingen trolig förklaring till beståndsminskningen. Vattenkemidata från länsstyrelsen (1991-2005), egna mätningar år 2006, fiskdata (provfiske år 1992) och eget provfiske, samt förekomsten av snäckor och musslor vid vår undersökning styrkte detta.
- 3) Det fanns indikationer på att reproduktionen hos flodkräftorna var nedsatt eftersom det upptäckts hanar med honliga könskaraktärer (år 2004, två av tre undersökta hanar). Provfisket år 2006 visade däremot att frekvensen av könsmogna djur var normal. Det finns en rad olika metaller, hormoner och organiska miljögifter som kan orsaka uppkomsten av sekundära könskaraktärer men någon kontinuerlig källa för tillförsel av dessa ämnen i Vrångens avrinningsområde kunde inte hittas. Om det har skett utsläpp är det snarare ett punktutsläpp eller en dumpning som inte är känd. Analyser av vatten och sediment år 2006 (en plats) kunde inte visa att metaller skulle vara en bidragande orsak till kräftornas symtom.
- 4) Nya forskningsrön i Finland indikerar att kräftpest (troligen den ursprungliga som kom till Sverige år 1907, eller en variant av denna) kan förekomma i flodkräftbestånd. Denna kräftpest är en mindre snabbväxande variant (jämfört med den som finns hos signalkräften) vilket gör att flodkräftan kan överleva en tid. Dock verkar sjukdomen ha en negativ påverkan på bestånden. Analyser av några kräftor från Vrången (hösten 2004) kunde varken styrka eller utesluta att kräftpest.

Vi såg åtminstone två möjliga förklaringar till att flodkräftbeståndet i sjön Vrången minskat, dels sjukdomar (kräftpest) och dels störd reproduktion och rekommenderade följande:

- Fler sjukdomsanalyser och fysiologiska undersökningar av kräftorna (21 st fanns konserverade)
- Genomförande av korsningsförsök med andra flodkräftor för att bedöma om Vrångens kräftor är fertila
- Att en bedömning görs om naturlig reproduktion sker i Vrången
- Analyser av organiska miljögifter i sediment, fisk, musslor och flodkräftor
- Det kan finnas genetiska begränsningar hos flodkräftorna i Vrången som påverkar deras fertilitet, därför bör man på försök prova att sätta ut nya flodkräftor från en annan population på en lämplig lokal i Vrången.

En annan slutsats som drogs var att, med den kunskap vi har i nuläget, finns det inget som tyder på att signalkräftan skulle klara sig bättre i Vrången än flodkräftan. Därför är det viktigt att ta reda på om kräftorna i Vrången verkligen har nedsatt fertilitet och om detta beror på något som har med förutsättningarna i sjön att göra. För övrigt har Vrången med sitt isolerade läge, få tillflöden och steniga bottnar mycket goda förutsättningar att hysa ett bra flodkräftbestånd.

SYFTE

Syftet med denna rapport är att fortsätta undersöka förutsättningarna för flodkräftan i Vrången. Vi redovisar resultat från sjukdomsanalyser av kräftorna som fångades i samband med provfisket år 2006. Det skedde även en utsättning av flodkräftor i Vrången hösten 2006 (632 stycken försträckta yngel, 134 stycken 1+, och 200 stycken 2+, från leverantör i Uddevalla) och vi redovisar observationer från denna lokal samt resultatet från ett standardiserat provfiske, hösten 2007. Avslutningsvis redovisas resultaten från ett fältexperiment där reproduktionsframgången hos flodkräftorna i Vrången och en närbelägen sjö med flodkräfta (Fjäråsjö) jämfördes.

Metoder och genomförande

SJUKDOMSANALYSER

I samband med provfisket av flodkräftbeståndet den 2 september år 2006 i Vrången insamlades 21 stycken flodkräftor för sjukdomsanalys (kräftpest). Samtliga kräftor som fångats var könsmogna. Totalt 4 hanar (totallängd 84-110 millimeter) och 17 honor (totallängd 80-100 millimeter) preparerades för sjukdomsanalys. Kräftorna preparerades samma dag enligt metodiken beskriven av Oidtmann med flera (1999), det vill säga kräftorna avlivades genom dekapitering, varefter stjärtmuskeln och huden på undersidan av stjärten (epidermis) konserverades i 70% etanol. Varje individuellt prov förvarades i tätslutande provrör (kryorör) med etanol. Veterinärintyg inskaffades, vilket intygade att vävnadsproverna inte innehöll levande agens av kräftpest, och proverna skickades till Veterinär institutet i Oslo (Dr Trude Vrålstad) den 27 februari år 2007. Metoden som används för påvisande av kräftpest ("Real-time PCR") är mycket känslig och väldigt små mängder av DNA från kräftpestsvampen räcker för att den skall kunna påvisas.

PROVFISKE OCH KONTROLL AV TIDIGARE UTSÄTTNINGSRISULTAT

Flodkräftbeståndet i sjön Vrången provfiskades den 27-28 augusti år 2007 vid samma platser och med samma metod som gjorts tidigare (Bilaga 1 i Del 1). Totalt användes 100 stycken linimjårdar betade med mört vid provfisket. Förutom provfisket genomfördes en visuell inventering efter kräftor där lina 11 placerats samt vid en utsättningsplats för flodkräftor (nära lina 8, Bilaga 1 i Del 1). Den visuella inventeringen där lina 11 placerats skedde genom snorkling nattetid av två personer längs en sträcka på 150 meter (djup 0,5-1,5 meter). Utsättningsplatsen (x/y: 6373378/1470967) kontrollerades från land med hjälp av pannlampor (Silva 20Watt). Totalt belystes 100 meter av strandlinjen på denna plats.

REPRODUKTIONSKONTROLL

För att kunna utvärdera om flodkräftorna i sjön Vrången reproducerar sig normalt planerades ett reproduktionsförsök med dessa kräftor. Men eftersom inga kräftor fångades vid provfisket eller observerades (se resultat) fick försöket ett lite annorlunda upplägg. Flodkräftor fångades in från en närbelägen sjö, Fjärasjö, som hyser ett bra bestånd av flodkräfta men det finns även signalkräfta i denna sjö. Flodkräftorna i denna sjö har bland annat sitt genetiska ursprung från Kulebo kräftan i Kalmar län. Syftet med reproduktionsförsöket var dels att kontrollera om flodkräftorna från Fjärasjö kunde överleva i Vrången och dels undersöka om de kunde reproducera sig i sjön. Samma kontroll gjordes med flod- och signalkräftor i Fjärasjö. Vattenkemiskt och fysikaliskt är Fjärasjö och Vrången tämligen lika med stabila pH-värden över 6 (varierade mellan 6,2–7,7 i båda sjöarna vid våra mätningar i samband med provtagningarna) och har lämpliga bottnar för kräftor.

Den 21 september 2007 placerades 35 mjårdar i Fjärasjö, vid olika platser runt sjön. Dessa var huvudsakligen av ”August” typ och betades med mört. Totalt fångades 168 flodkräftor och 14 signalkräftor. Signalkräfta fångades enbart i Sjöns norra del. Vattentemperaturen var 12,6° C och pH-värdet 6,40 i samband med detta fiske.

Reproduktionsförsöket hade i stora drag följande upplägg. Först placerades hanar (4 stycken) och honor (7-8 stycken) i burar (Figur 1) för att para sig (21-22 september). I Fjärasjö placerade vi två burar med flodkräftor och en med signalkräfta. I Vrången placerades två burar med flodkräftor. Därefter kontrollerades romläggningen (29-30 oktober), och hanarna togs bort. Honorna placerades åter i burarna och överlevnad och romsättning kontrollerades på våren 2008 (12-13 maj) liksom kläckningsresultatet (12-13 juni). Reproduktionsförsöken i Vrången gjordes där lina 11 placerats vid provfisket (Bilaga 1 i Del 1, x/y: 6373791/1470549) och i Fjärasjö vid en båtplats i en skyddad vik (x/y: 6387242/1466748).



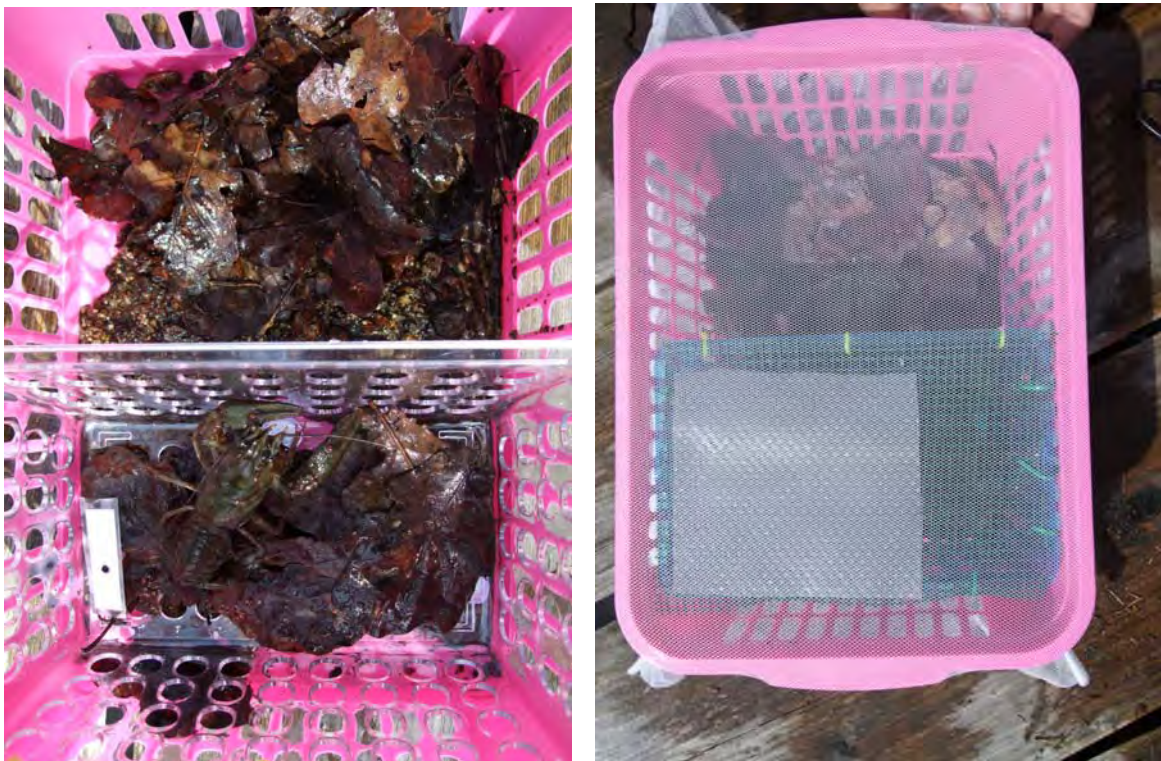
Figur 1. Försöksburar i Fjärasjö. Foto taget den 29 oktober 2007.

FÖRSÖKSBURAR

Burarna var kvadratiska och bestod av en träram med ett plastnät runt om (maskvidd 5 millimeter). Buren hade en yta av 1 m² och var 30 centimeter hög. I varje bur placerades fyra stycken takpannor som skydd för kräftorna. Varje bur märktes ut med en boj och förtöjdes med en potatissäck med sten (Figur 2). I varje bur la vi också i blad som hämtades från Fjärasjö, som skulle utgöra föda för kräftorna. Ytterligare föda fick kräftorna från alla småkryp som kunde ta sig igenom nätet. När kräftorna skulle para sig placerades burarna i strandkanten, strax under vattenytan (0,5 meter djup). Efter romläggningskontrollen i slutet av oktober placerades burarna djupare (1,5 meter) så att risken för att isens rörelser skulle påverka burarna minimerades. När vinteröverlevnad och romstatus kontrollerades första gången på våren, (maj) togs honorna upp och varje hona placerades sedan i en mindre kläckbur som i sin tur placerades i en liten plastback (Figur 3). Kläckburen hade måtten 22 x 15 x 10 centimeter, och bestod av genomskinlig hårdplast med många småhål (cirka 10 millimeter) så att eventuella yngel skulle kunna komma ut, men inte honan. I kläckburen placerades löv som föda för honan och den täcktes med nät (maskvidd 5 millimeter) ovanpå så att honan inte skulle kunna rymma. Samtidigt fästes en fyrkantig ej genomskinlig plastbit ovanpå kläckburen så att honan inte skulle utsättas för direkt solljus (Figur 3). Under kläckburen fästes några skruvar så att kläckburen inte skulle stå direkt på botten av backen, detta för att eventuella yngel enkelt skulle kunna ta sig från buren med honan. Hela plastbacken (35 x 25 x 15 centimeter, även den med hål för att säkerställa vattenutbyte och planktontillförsel), med honan, placerades sedan i en finmaskig påse (cirka 1,5 millimeter maskvidd), för att eventuella yngel inte skulle kunna rymma. Innan påsen knöts åt placerades rikligt med löv och medföljande småkryp i plastbacken som skydd och föda för eventuella yngel (Figur 3). Avslutningsvis placerades plastbacken med honan i den stora buren i sjön. Burarna placerades återigen i strandkanten (djup 0,5 meter).



Figur 2. Försöksbur i Fjärasjö vid starten av reproduktionsförsöket den 29:e oktober 2007.



Figur 3. Nere till vänster i bild finns en flodkräftthona i sin kläckback. Notera hålen där ynglen kan komma ut till den större plastbacken. Här finns löv och grus som föda och skydd för ynglen. Till höger den färdiga plastbacken som är placerad inne i en nätpåse för att ynglen skall kunna stanna kvar och räknas. Kläckbackarna placerades sedan mellan den 12 maj och den 13 juni i försöksjöarna.

MÄTNINGAR

Vid försökets början märktes varje hona individuellt med Tipp-ex och längden mättes. Vid varje kontroll fotograferades varje hona (undersidan av stjärten) för att kunna följa äggutvecklingen. När försöket avslutades räknades alla yngel i påsen med honan. Eftersom inte alla yngel var frilevande vid avslutningen av försöket räknades även romkorn och yngel av stadie 1 (helt nykläckta yngel som fortfarande sitter fast under honans stjärt). I samband med reproduktionsförsökets start placerades 7-8 stycken köns mogna honor och fyra köns mogna hanar i varje bur. Totalt placerades det 16 + 8 flodkräftor i Fjärsjö samt 8 + 4 signalkräftor, fördelat på tre olika burar. I Vrånge placerades totalt 14 + 8 flodkräftor, fördelat på 2 burar. Storleken på flodkräftthornorna i Fjärsjö varierade mellan 93-98 mm (medelstorlek på 92 millimeter) och hanarna mellan 92-111 millimeter (medelstorlek på 99 millimeter). Storleken på signalkräftthornorna i Fjärsjö varierade mellan 91-108 millimeter (medelstorlek på 98 millimeter) och hanarna mellan 90-100 millimeter (medelstorlek på 93 millimeter). Storleken på flodkräftthornorna i Vrånge varierade mellan 80-100 millimeter (medelstorlek på 91 millimeter) och hanarna mellan 89-109 millimeter (medelstorlek på 98 millimeter).

Resultat

SJUKDOMSANALYSER

Av de 21 undersökta flodkräftorna som fångades i sjön Vrånge var det inga som innehöll DNA från kräftpestsvampen, dvs de var pestfria (bilaga 1).

PROVFISKE OCH KONTROLL AV TIDIGARE UTSÄTTNINGSRISULTAT

Provfisket efter flodkräfta i Vrånge hösten år 2007 var mycket nedslående eftersom inga kräftor fångades i någon av de 100 provfiskemjårdarna. Provfiskemjårdar fanns även placerade intill lokalen där flodkräftor sattes ut hösten 2006. Vid observationer och snorklingar nattetid kunde inte heller några kräftor observeras, inte ens på utsättningsplatsen. Detta medförde att inga kräftor från Vrånge kunde användas vid försöket där reproduktionskontrollen skulle testas (se rubriken reproduktionskontroll under avsnittet metod och reproduktionskontroll). Därför genomfördes ett reproduktionsförsök i Vrånge och Fjärsjö med kräftor från Fjärsjö. I Fjärsjö finns såväl flod- som signalkräfta.

REPRODUKTIONSKONTROLL

Vid kontrollen den 29-30 oktober hade samtliga signalkräftthonor i Fjärsjö lagt ut sin rom på ett normalt sätt (Figur 4). I Fjärsjö hade även 3 av de 16 flodkräftthornorna lagt ut sin rom på ett normalt sätt (Figur 4) och alla utom en hona var parade. I Vrånge hade 4 av 14 flodkräftthonor lagt ut sin rom på ett normalt sätt och övriga honor var parade (Figur 5). Överlevnad och romutveckling kontrollerades i båda sjöarna i maj 2008. Vid kontrollen i Fjärsjö levde alla kräftorna. En signalkräftthona (av 8) hade något mindre rom än vad man kan förvänta sig i förhållande till dess längd, och samma gällde för två av flodkräftorna (av 16). I Vrånge hade en kräfta försvunnit (skalrester fanns kvar i buren) men förutom för fyra honor av 13, som hade något mindre rom än vad man kan förvänta sig i förhållande till deras storlek, hade övriga honor en bra romsättning.



Figur 4. Till vänster en signalkräfta och till höger en flodkräfta. Båda från Fjäräsjö med nyligen utlagd rom den 29 oktober 2007.



Figur 5. Nyligen parad flodkräfta i Vrången. Notera de vita spermatoforer som finns vid könsöppningen och på stjärten.

KLÄCKNINGRESULTAT JUNI 2008

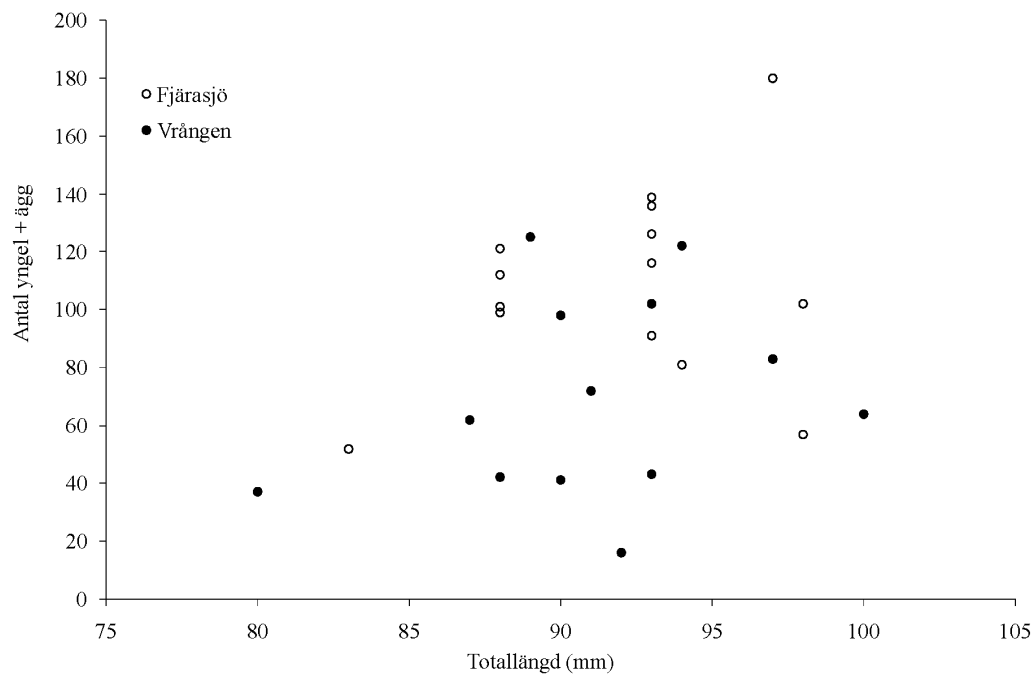
Av 8 signalkräfthonor i Fjärasjö hade en hona helt misslyckad reproduktion. Två av honorna hade frilevande yngel (stadie 2-3, Figur 6), men flera honor hade även yngel som var nykläckta (stadie 1) eller rom som var väldigt när kläckning. Om man räknar samman alla romkorn och yngel för varje signalkräfthona varierade det mellan 10 och 266 (medelvärde $\pm$ standardavvikelse: 113 ± 91). Två av flodkräftorna i Fjärasjö hade utebliven reproduktion. För övriga honor såg utvecklingen normal ut, även om inga honor hade yngel i stadierna 2-3. De flesta honorna hade nykläckta yngel och rom som var nära kläckning. Om man räknar samman alla romkorn och yngel för varje flodkräfthona varierade det mellan 52 och 180 (medelvärde $\pm$ standardavvikelse: 108 ± 33). Flodkräftorna i Vrången följde utvecklingen i Fjärasjö. De flesta honorna hade stadie 1 yngel och ägg som såg helt normala ut (Figur 7). I detta fall varierade antalet mellan 16 och 125 (medelvärde $\pm$ standardavvikelse: 70 ± 34). En hona i Vrången hade helt tappat sin rom och en hade dött (skalrester kvar). En statistisk jämförelse (kovariansanalys), inkluderande bara de honor som inte helt tappat sin rom, visar att vid samma storlek har honorna i Fjärasjö fler ägg och yngel än de i Vrången (ANOVA med totallängden av hona som kovariat, $P=0,009$, Figur 8).



Figur 6. Signalkräfthona med frisimmande yngel (stadie 2-3) från kläckningsförsöket i Fjärasjö. Denna hona, som var 108 millimeter lång, hade 172 yngel vid kontrollen den 12 juni.



Figur 7. Flodkräfthona från Vrånge med nykläckta yngel (stadie 1) och ägg som är nära kläckning. Honan, som var 89 millimeter lång, hade 29 stadie 1 yngel och 96 ägg.



Figur 8. Reproduktionsresultat (totala antalet levande yngel och ägg) i juni för flodkräftthonor av olika längd i Fjärås och Vrånge.

Slutsatser

Det finns inget som tyder på att flodkräftorna i Sjön Vrången fram till och med hösten 2006 var bärare av kronisk kräftpest, vilket det finns indikationer på från Finland att det kan förekomma även hos flodkräftor. Totalt analyserades 21 stycken kräftor, vilket får anses som ett stort material. Trude Vrålsta, som genomfört analysen och som är expert på svampsjukdomar, säger att ”eftersom ingen av kräftorna i Vrången visat spår av kräftpest är det väldigt osannolikt att det förekommer kräftpest i populationen”. Hon menar därför, vilket vi instämmer i, att det är andra orsaker än kräftpest som orsakat beståndsminskningen fram till 2006.

Däremot kan det inte uteslutas att kräftpesten kan ha slagit till efter provfisket år 2006. Vid provfisket hösten 2007 erhöles inga kräftor, ej heller kunde några kräftor observeras vid utsättningsplatsen eller på andra platser i sjön. Vi fångade inte heller några signalkräftor.

Resultaten från reproduktionsförsöket visar tydligt att flodkräftorna i Vrången (med ursprung i Fjärasjö) överlevt från september år 2007 till juni 2008. Därmed kan det uteslutas att det finns akut kräftpest i sjön. Däremot kan man inte utesluta att det kan finnas signalkräftor i sjön som orsakat ett tidigare utbrott (troligtvis under 2007). Detta beror på att det före 2007 fanns tillräckligt med flodkräftor för att en eventuell smitta skall kunna ha spridit sig och slagit ut beståndet i hela sjön. Det kan finnas signalkräfta i sjön som bär på smittan men om det rör sig om enstaka individer, i andra delar av sjön än där vi bedrivit vårt försök, är sannolikheten liten för att de skall smitta flodkräftorna. Ett omfattande provfiske i hela sjön bör göras för att, om möjligt, utesluta att det finns pestbärande signalkräftor.

Dålig reproduktionsframgång misstänktes kunna förklara en beståndsminskning av flodkräftorna i Vrången fram till 2006. Våra resultat visar däremot att Vrångens vattenkvalitet idag, i alla fall på kort sikt, är tillräckligt bra för att flodkräftor skall kunna reproducera sig i sjön. Även om reproduktionen var något bättre i Fjärasjö fanns det inga tecken på att reproduktionen var allvarligt störd i Vrången. Signalkräftornas kläckningsframgång i Fjärasjö ligger inom det intervall som rapporterats i andra studier från sjöar (sammanfattat i Lewis 2002). Det finns inte så många andra data på reproduktionsframgång hos kräftor i Sverige men Abrahamsson (1973) rapporterade att antalet ägg på flodkräftehonor från fyra naturvatten, av den storleken vi använde i våra försök, varierade mellan 90-100 i juni månad (data från 1960-talet). Av de 13 honor som lyckades reproducera sig i Vrången var det 5 st som låg över eller nära resultatet som Abrahamsson (1973) redovisar. Kräftorna som Abrahamsson (1973) studerade var ifrån naturvatten och det är rimligt att kräftor som befinner sig i burar under så pass lång tid som vårt försök pågick är mer stressade än honor som kan leva fritt, och i mycket lägre tätheter. Därmed kan man förvänta sig att honor under försök som detta i högre utsträckning tappat rom än honor i naturvatten. Att överlevnaden var god och att så pass få honor tappat sin rom under försökets gång får ses som ett helt godtagbart resultat. Vad vi vet så finns det inga liknande reproduktionsförsök gjorda och vi kan konstatera att denna metodik vi använt kan vara användbar för att testa reproduktionsframgång hos kräftor i naturvatten.

Sammanfattningsvis finns det idag inget som tyder på att flodkräftan inte skall kunna reproducera sig i Vrången. En återutsättning av flodkräftor bör dock inte ske förrän orsaken till att beståndet försvann efter 2006 klarlagts. Det kan uteslutas att de utsatta flodkräftorna hösten 2006 var pestsmittade, eftersom beståndet de kom ifrån fortfarande lever. Det krävs därför att ett fiske genomförs över hela sjön för att konstatera om signalkräftor finns. Om

det fångas någon signalkräfta skall den tas bort och analyseras för kräftpest. Om inga signalkräftor fångas bör man dock hålla flodkräftor sumpade i olika delar av sjön innan en ny utsättning av flodkräftor görs. Detta bör göras under en längre tid, helst över vinter och vår.

Tack

Vi vill än en gång rikta ett stort tack till Sven-Olof Sandberg, Fagerhultasjön och Vrångens fiskevårdsområde, för lån av stuga och för hjälp med att kontrollera kräftorna i Vrången. Tack också till Bengt Karlsson och Curt-Erik Carlsson för fiskehjälp, trevliga diskussioner och hjälp med försöket i Fjärasjö.

Referenser

Abrahamsson, S. 1973. The crayfish, *Astacus astacus*, in Sweden and the introduction of the american crayfish *Pacifastacus leniusculus*. Freshwater Crayfish 1, 28-40.

Lewis, S.D. 2002. *Pacifastacus*. I: Biology of freshwater crayfish. Holdich, D. M (editor), sidorna, 511-540.

Oidtman, B., Schmid, I., Rogers, D., & Hoffmann, R.W. 1999. An improved isolation method for the cultivation of the crayfish plague fungus, *Aphanomyces astaci*. Freshwater Crayfish 12:303-312.

Bilaga 1



Veterinærinstituttet

Oslo

Länsstyrelsen i Jönköpings län
v/ Anton Halldén
551 86 Jönköping
Sverige

Ullevålsveien 68
Pb. 8156 Dep.
0033 Oslo
t 23 21 60 00
f 23 21 60 01
www.vetinst.no

Deres ref.:

Vår ref.:

Dato:

Per Nyström

2007-22-137

03.04.2007

Innsendelse mottatt 05.03.2007

Eier: Länsstyrelsen i Jönköpings län, 551 86 Jönköping, Sverige
Årsak til innsendelse: Krepsepest (infeksjon med *Aphanomyces astaci*) - mistanke
Antall prøver mottatt: 21 prøver à 2 delprøver
Merknad: Innsendelser mottatt fra Per Nyström

Prøver

Lokalitet	Innsamlingsdato	Innsenders merking	Individnr.	Undersøkt materiale*	Art
Vrången, Sverige	02.09.2006	A1 3C og A1 4T	1	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A2 3C og A2 4T	2	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A3 3C og A3 4T	3	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A4 3C og A4 4T	4	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A5 3C og A5 4T	5	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A6 3C og A6 4T	6	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A7 3C og A7 4T	7	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A8 3C og A8 4T	8	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A9 3C og A9 4T	9	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A10 3C og A10 4T	10	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A11 3C og A11 4T	11	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A12 3C og A12 4T	12	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A13 3C og A13 4T	13	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A14 3C og A14 4T	14	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A15 3C og A15 4T	15	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A16 3C og A16 4T	16	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A17 3C og A17 4T	17	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A18 3C og A18 4T	18	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A19 3C og A19 4T	19	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A20 3C og A20 4T	20	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)
		A21 3C og A21 4T	21	K, M	Edelkreps (<i>Astacus astacus</i>)

* K = myk kutikula fra buk (tilsvarer C i innsenders merking). M = muskel (tilsvarer T i innsenders merking). Innsendt prøvemateriale av kutikula (K) ble for hvert individ delt på langs i to like halvdelar / delprøver merket K1A og K1B. Fra innsendt prøvemateriale av muskel ble det for hvert individ tatt ut en delprøve M1A fra bakre del av muskel nærmest telsonområdet. Generelt analyseres kun A-prøver rutinemessig. B-prøver analyseres i tilfeller hvor det enten er tvil om A-resultatene eller ved behov for ytterligere verifisering.

Opplysninger om usikkerhet i kvantitative resultater kan fåes ved å ta kontakt med laboratoriet.
Resultatene gjelder kun for prøvene i svaret. Svaret må ikke gjengis i utdrag uten skriftlig godkjenning.

Side 1 av 4

Metode: Påvisning av krepsepest (*Aphanomyces astaci*) ME07_069*

Analysen er ikke akkreditert. Resultatet gjelder kun for undersøkt prøvemateriale.

*Analysen er utført med DNA basert real-time PCR metodikk som er designet for å spesifikt påvise og kvantifisere tilstedeværelse av *Aphanomyces astaci* (krepsepest agens). All tilgjengelig kunnskap tilsier at DNA-sekvensmotivet (analytten APHAITS) som påvises kun forekommer i *A. astaci*. Påvisning av analytten tolkes derfor som påvisning av *A. astaci* i prøvematerialet. Resultatene ansees som pålitelige og oppgis kun dersom alle inkluderte kontroller forblir negative etter real-time PCR analysen. Disse kontrollene inkluderer miljøkontroll, DNA-isoleringskontroll og PCR kontroll.

Påvisning og kvantifisering.

Det deles generelt inn i syv kvantitative kategorier basert på antall PFU (PCR forming units) av analytten APHAITS som påvises i en prøve. Tolkning av resultater vil så langt det lar seg gjøre baseres på en samlet vurdering av alle resultater og observasjoner i saken. Kategoriene defineres som følger:

Påvisnings-kategori	# PFU* påvist i prøven	Tolkning
C0	Under deteksjonsgrense	Negativ
C1	$\geq 1 < 10$	Spor av <i>A. astaci</i> DNA. Representerer ingen sikker påvisning alene. Resultatet kan bety ekstremt lave infeksjonsnivåer, men kan også skyldes PCR-artefakter eller minimal krysskontaminering.
C2	$\geq 10 < 10^2$	Svært lave mengder <i>A. astaci</i> DNA i prøven. Ansees for å representere sikker påvisning i de aller fleste tilfeller. Resultatet kan bety svært lave infeksjonsnivåer.
C3	$\geq 10^2 < 10^3$	Lave mengder <i>A. astaci</i> DNA i prøven. Ansees for å representere sikker påvisning alene, og kan bety lave infeksjonsnivåer.
C4	$\geq 10^3 < 10^4$	Lave til moderate mengder <i>A. astaci</i> DNA i prøven. Ansees for å representere sikker påvisning alene, og kan bety lave til moderate infeksjonsnivåer.
C5	$\geq 10^4 < 10^5$	Moderate mengder <i>A. astaci</i> DNA i prøven. Ansees for å representere sikker påvisning alene, og kan bety moderate infeksjonsnivåer.
C6	$\geq 10^5 < 10^6$	Høye mengder <i>A. astaci</i> DNA i prøven. Ansees for å representere sikker påvisning alene, og kan bety høye infeksjonsnivåer.
C7	$\geq 10^6 < 10^7$	Svært høye mengder <i>A. astaci</i> DNA i prøven. Ansees for å representere sikker påvisning alene, og kan bety svært høye infeksjonsnivåer

* PFU = PCR forming units. Termen refererer til amplifiserbare DNA-kopier av analytten (APHAITS) i prøven.

Opplysninger om usikkerhet i kvantitative resultater kan fåes ved å ta kontakt med laboratoriet.
Resultatene gjelder kun for prøvene i svaret. Svaret må ikke gjengis i utdrag uten skriftlig godkjenning.

Side 2 av 4

Resultater fra RT-PCR for påvisning av krepsepest (*Aphanomyces astaci*) ME07_069

Individ	Delprøve*	Analytt	Funn	Påvisnings-kategori	Undersøkelsens varighet
1	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
2	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
3	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
4	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
5	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
6	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
7	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
8	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
9	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
10	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
11	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
12	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
13	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
14	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
15	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
16	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
17	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
18	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
19	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
20	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
21	K1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007
	M1A	APHAriTS (59 bp)	Under deteksjonsgrense	C0	20.03.2007 - 29.03.2007

*For hvert individ er det undersøkt A-prøver av kutikula (K1A) og muskel (M1A).

Tolkning:

Det er ikke påvist *Aphanomyces astaci* eller spor av denne fra noen av de 21 undersøkte individene av edelkreps. Real-time PCR metoden som er benyttet er svært sensitiv, og påviser svært lave mengder *A. astaci* DNA (tilsvarende < én cellekjerne) både i mottakelig kreps som edelkreps og i bærerkreps som signalkreps. Resultatene fra undersøkelsen støtter dermed tidligere undersøkelser i saken foretatt av Birgit Oidtmann ved Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Science (CEFAS) hvor det heller ikke ble påvist *A. astaci* ved hjelp av konvensjonell PCR metodikk. Når kun et fåtalls individer undersøkes for smittestatus kan det ikke fastslås at negative resultater er ensbetydende med fravær av *A. astaci* i populasjonen. Når det imidlertid undersøkes 21 individer hvor ingen tester positivt for *A.*

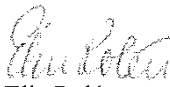
Opplysninger om usikkerhet i kvantitative resultater kan fåes ved å ta kontakt med laboratoriet.
Resultatene gjelder kun for prøvene i svaret. Svaret må ikke gjengis i utdrag uten skriftlig godkjenning.

Side 3 av 4

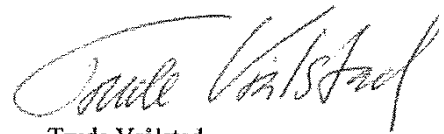
astaci, er sannsynligheten svært stor for at *A. astaci* ikke er til stede i populasjonen. Med unntak av melaniserte flekker hos noen individer (jfr. undersøkelse foretatt ved CEFAS) foreligger det så langt vi kan vurdere heller ingen andre typiske tegn på *A. astaci* infeksjon. Melaniserte flekker hos kreps kan skyldes uspesifikke immunresponser eller andre sykdoms agens.

Resultatene fra undersøkelsen viser at *A. astaci* ikke var tilstede i undersøkte delprøver fra 21 individer av edelkreps fra Vrången i Sverige. Det er derfor stor sannsynlighet for at andre faktorer enn *A. astaci* har forårsaket det beskrevne sykdomsproblemet i denne bestanden.

Med hilsen



Elin Rolén
Overingeniør



Trude Vrålstad
Seniorforsker

Kopi:
Ekol HB c/o Per Nyström,
Hökgatan 2
270 35 Blentarp
Sverige

Del 3

Provfiske efter signalkräfta i Vrången 2008
samt resultat av kräftpestanalyser från kräftor i Vrången, Fjärasjö och Fagerhultasjön.



Ekoll HB, 2009
Per Nyström och Marika Stenberg
på uppdrag av Länsstyrelsen i Jönköpings län

Innehållsförteckning

Sammanfattning.....	62
Inledning	63
Metoder och genomförande.....	63
Resultat.....	65
Slutsatser	66
Referenser.....	67

Sammanfattning

Provfisket skedde i hela sjön, hösten 2008. I den södra delen fiskades samma lokaler som åren 2003, 2006 och 2007. Flodkräftor fångades bara under 2003 och 2006. I Vrångens norra del fångades en signalkräfta på 100 mjärddar år 2008 och i den västra delen 12 signalkräftor på 100 mjärddar. Dessa var fördelade på enbart tre linor (av 20 totalt). Det var såväl könsmogna honor som hanar som fångades och totallängden varierade mellan 7,5–12 centimeter. Inga flodkräftor fångades, däremot levde fortfarande fyra flodkräftehonor som varit sumpade i en bur sedan hösten 2007. Buren befann sig på en plats där signalkräfta fångades (lina 10).

Ett flertal vuxna kräftor skickade in för analys av kräftpest. Dels de fyra flodkräftorna som levt i sumpen och dels 10 signalkräftor som fångats i Vrången. Förutom dessa kräftor skickades även kräftor för sjukdomsanalyser från två närbelägna sjöar. Det var 10 flod- och 10 signalkräftor från Fjärasjö (sambestånd), samt 10 signalkräftor från Fagerhultasjön. Kräftpest kunde inte påvisas på någon av de analyserade kräftorna.

Resultaten visar att signalkräftan förekommer i Vrången, åtminstone sedan hösten 2008. Eftersom det inte finns något tillstånd för signalkräftinplantering i Vrången är det sannolikt en illegal inplantering. Resultaten visar också att enskilda signalkräftor inte nödvändigtvis behöver vara bärare av kräftpest. Även om det inte kunnat påvisas kräftpest på signalkräftorna i Vrången är det sannolikt att åtminstone någon signalkräfta varit bärare av pest och slagit ut flodkräftbeståndet, troligtvis under 2007. Även om signalkräftorna inte är bärare av pest i Vrången (fast fler analyser rekommenderas för att få ökad kunskap) är förutsättningarna för flodkräftan i Vrången dåliga. Erfarenhetsmässigt kommer signalkräftan att slutligen (20-30 år) konkurrera ut flodkräftan, även om signalkräftorna är pestfria.

Inledning

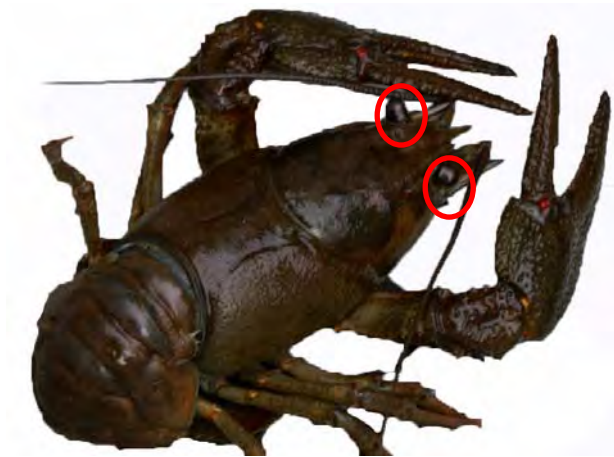
Då flodkräftbeståndet i Vrången verkade vara borta hösten 2007 (Del 2 i denna rapport), rekommenderades att undersöka om signalkräftan, och därmed spridning av kräftpest, kunde vara en förklaring till att beståndet försvann. Det fanns däremot inget tillstånd för signalkräftinplantering. Länsstyrelsen i Jönköpings län genomförde ett omfattande kräftfiske i Vrången, hösten 2008. Samtidigt togs alla fångade kräftor upp för att kunna skickas på analys för kräftpest.

För att samtidigt få en uppfattning om förekomsten av kräftpest i några närbelägna sjöar togs även kräftor från dessa upp och skickades för analys. Det var Fjärasjö, som sedan flera år har ett sambestånd av flod- och signalkräfta, samt Fagerhultasjön som är en signalkräftsjö. Baserat från vad vi vet om signalkräftan och kräftpesten förväntades signalkräftor som fångats i Vrången vara bärare av kräftpest, liksom de från Fagerhultasjön. Däremot förväntades signalkräftorna (och flodkräftorna) från Fjärasjö vara pestfria.

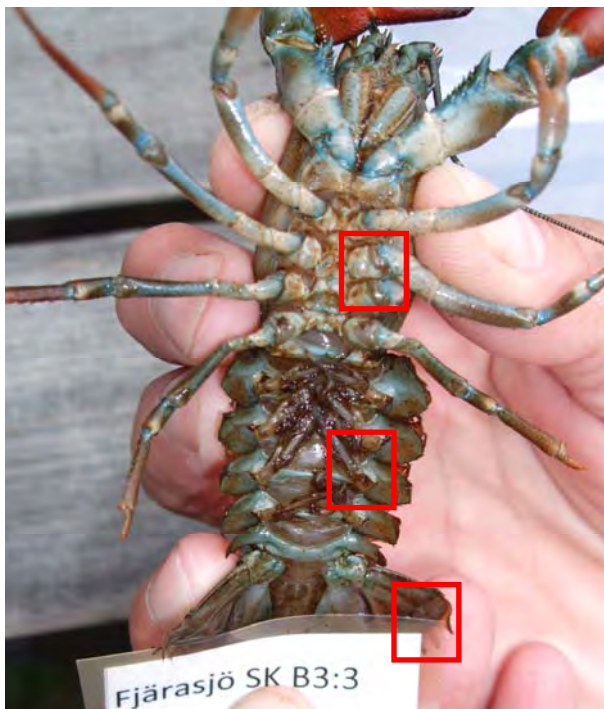
Metoder och genomförande

Vrången provfiskades enligt samma metod som beskrivs i Del 1 för fisket 2006. Skillnaden var att även den norra delen provfiskades. Denna provfiskades med 100 mjärdar den 3 september. Den 4 september provfiskades samma lokaler i södra delen som fiskats 2003, 2006 och 2007. Även detta fiske genomfördes med 100 mjärdar.

Metoden för att analysera kräftpest finns beskriven i Del 2 och genomfördes av Veterinärinstitutet i Oslo. Från Vrången konserverades 10 vuxna signalkräftor och fyra flodkräftor (flodkräftorna fanns i en bur sedan hösten 2007), från Fjärasjö 10 vuxna flod- och 10 signalkräftor och från Fagerhultasjön 10 vuxna signalkräftor. Samtliga kräftor konserverades levande. Skillnaden mot analyserna år 2007 var att hela kräftor skickades för analys (i rör med 70 % etanol), eftersom kräftpesten kan upptäckas på olika ställen och vävnader i flod- och signalkräfta. Vid analysen av flodkräfta togs prov från huden på undersidan av stjärten (kutikula), stjärtmuskeln samt ögonen (Figur 1). På signalkräftorna analyserades huden på undersidan av stjärten (kutikula), slutet på stjärten (telson) samt basen vid benen (Figur 2).



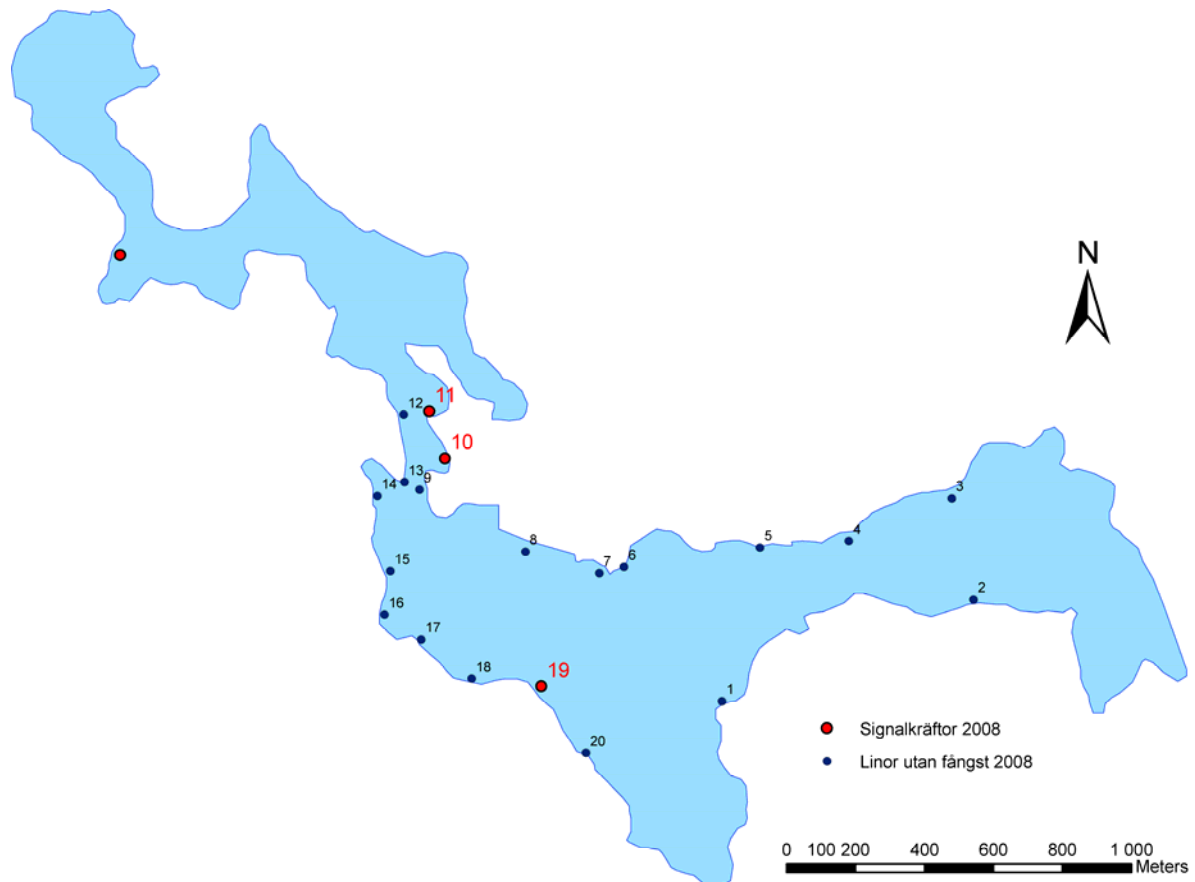
Figur 1. Provtagningspunkter för kräftpestanalyser på flodkräfta.



Figur 2. Provtagningspunkter för kräftpestanalyser på signalkräfta.

Resultat

Det fångades 13 signalkräfter i Vrången hösten 2008. Signalkräfter fångades i norra och västra delarna av sjön (Figur 3). Man fångade både könsmogna hanar och honor. De var i medeltal 9,2 centimeter långa och vägde 32 gram. Den minsta kräftan var 7,5 centimeter lång och den största 12 centimeter lång. Trots att åtta signalkräfter (fördelade på fem mjärdar) fångades strax intill lokalen med fyra sumpade flodkräftor (Lina 10, Figur 3) levde flodkräftorna i sumpen. Precis som 2007 fångades inga flodkräftor i mjärdarna.



Figur 3. Linornas placering i södra delen av Vrången. På varje lina sitter fem mjärdar. De röda prickarna markerar var man fångade signalkräfter vid fisket 2008.

Sjukdomsanalyserna visade att inga av de 30 signalkräfter som analyserats, inklusive de 10 från Vrången, hade kräftpest. Kräftpest kunde heller inte påvisas på de fyra sumpade flodkräftorna i Vrången, inte heller på de 10 kräftorna från Fjärasjö.

Slutsatser

En rimlig förklaring till att flodkräftbeståndet i Vrången försvann någon gång under 2007 kan vara kräftpest. Mönstret är väldigt tydligt för kräftpest som spridits med signalkräfta. Vid provfisket 2006 fångades visserligen inte så många flodkräftor i mjärdarna, men relativt många småkräftor observerades. År 2007 observerades inga flodkräftor någonstans i sjön. År 2008 fångades istället signalkräftor, bl a på den plats där både småkräftor och vuxna individer av flodkräfta fångats 2006. Det är däremot anmärkningsvärt att signalkräftorna som fångats i Vrången (och även Fagerhultsjön) inte hade kräftpest. Det vore därför önskvärt att fler analyser gjordes på signalkräftorna i Vrången (och andra signalkräftsjöar), inte minst för att få erfarenheter om hur stor andel av ett bestånd som kan vara infekterat. Det kan inte uteslutas att de signalkräftor som numera finns i Vrången faktiskt kan vara pestfria. Även om signalkräftorna skulle vara pestfria är det tveksamt om en återintroduktion av flodkräfta skulle lyckas eftersom signalkräftan efter en längre tid kommer att konkurrera ut flodkräftan (sammanfattat i Nyström 2002). I några svenska och finska sjöar har man sett en kraftig nedgång av flodkräftan under en 20-30 års period.

Att flodkräftor försvinner från en sjö och ersätts av signalkräftor kan ha stor betydelse för sjöekosystemens funktion och mångfald (sammanfattat i Nyström och Stenberg i tryck). Vrången är en sjö med en bevarandeplan som fastställdes år 2006 (Länsstyrelsen i Jönköpings län 2006) och sjön har mycket höga naturvärden knutna till naturtypen: ”3130 Oligomesotrofa sjöar med strandpryl, braxengräs eller annuell vegetation på exponerade stränder”. Vidare så kännetecknas naturtypen av ”naturlig artsammansättning utan negativ inverkan av främmande arter eller fiskstammar” (Länsstyrelsen i Jönköpings län 2006).

Den förändring i kräftbestånden som pågår nu i Vrången påverkar hur bevarandeplanens målsättningar kan uppfyllas. Tidigare studier i signalkräftsjöar i Sverige tyder på att fiskar som utnyttjar signalkräftan som byte (till exempel abborre) kan gynnas. Kräftor är allätare och utnyttjar bland annat vattenväxter och nedfallna löv som föda, vilket inte så många andra organismer som finns i Vrången gör. Kräftor, oavsett art, kan därför överföra energi till rovfiskarna som lever av dem. Enligt bevarandeplanen (Länsstyrelsen i Jönköpings län 2006) skall Vrången ha reproducerande bestånd av sik. Hur påverkas siken av att födotillgången för abborre ändras? Vidare kan kräftorna påverka mångfalden och utbredningen av såväl vattenväxter som småkryp (inte minst kransalger, snäckor och musslor). Även om signalkräftan och flodkräftan har liknande födoval äter signalkräftan mer vid samma kroppsvikt än vad flodkräftan gör. I vissa sjöar har signalkräftan dessutom bildat tätare bestånd än flodkräftan och utnyttjat områden i sjöar som flodkräftan inte gjort (ofta djupare områden). I Vrången innebär en för tillfället låg kräfttäthet, och en förmodad framtida etablering av signalkräfta, att ekosystemet förändras under en tid framöver. För att Vrången skall vara en sjö med höga naturvärden (naturtyp 3130) och bevarandeplanen skall ha väl underbyggda målsättningar bör ett övervakningsprogram startas redan nu. Detta skall innefatta såväl, kräft- och fiskbeståndens utveckling som inventering av bottenfauna och vattenvegetation i olika delar av sjön. Genom denna dokumentation kan en unik kunskap byggas om hur naturtypen (3130) påverkas när signalkräftan etableras. En kunskap som är av såväl nationellt som europeiskt intresse.

Referenser

Länsstyrelsen i Jönköpings län. 2006. Bevarandeplan för Natura 2000-område Vrången.

Nyström, P. 2002. Ecology. In: Biology of freshwater crayfish. Ed: D. M. Holdich. pp. 192-235. Blackwell Science, Oxford.

Nyström, P. och Stenberg, M. i tryck. Våra sötvattenskräftor – spelar de någon roll? Stockholm Vatten.