

EN FENA PÅ ATT BESTÄMMA ÅLENS URSPRUNG

RAPPORT 2023:936



VATTENKRAFT

VATTENKRAFTENS
MILJÖFORSKNINGSPROGRAM



Energiforsk

En fena på att bestämma ålens ursprung

Ett pilotprojekt

PHILIP JACOBSON, YVETTE HEIMBRAND, KARIN LIMBURG, JOSEFIN SUNDIN

ISBN 978-91-7673-936-5 | © Energiforsk mars 2023

Energiforsk AB | Telefon: 08-677 25 30 | E-post: kontakt@energiforsk.se | www.energiforsk.se

Förord

Vattenkraften i Sverige ska omprövas och erhålla moderna miljövillkor, enligt den nationella prövningsplanen. I omprövningen och miljöanpassning av svensk vattenkraft är det angeläget att få mer kunskap om den akut hotade ålen.

I det här projektet har nya metoder för att ta reda på ålens ursprung undersökts, dvs om det går att använda icke-dödliga insamlingsmetoder som ålens fenor istället för dess otoliter för att detektera den strontiummärkning som samtliga småålar bär på som satts ut i Sverige sedan 2009.

Rapporten har tagits fram av Philip Jacobson, Yvette Heimbrand, Karin Limburg, Josefin Sundin, SLU, inom Vattenkraftens miljöforskningsprogram som verkar för att ta fram ett faktabaserat kunskapsunderlag inför beslut om miljöförbättrande åtgärder i vattenkraften. Programmet koordineras av Energiforsk och finansieras av Vattenfall Vattenkraft, Fortum, Sydkraft Hydropower, Statkraft Sverige, Skellefteå Kraft, Holmen Energi, Jämtkraft, Tekniska verken i Linköping, Mälarenergi, Karlstads Energi och Jönköping Energi.

Projektet har följts av programmets styrgrupp bestående av Marco Blixt (Fortum), Erik Sparrevik och Henrik Viklands (Vattenfall), Johan Tielman (Sydkraft Hydropower), Susann Handler (Jämtkraft), Jakob Bergengren (Tekniska verken i Linköping), Angela Odelberg (Statkraft) och Sandra Åström (Skellefteå kraft).

Bertil Wahlund, Energiforsk

Stockholm, mars 2023

Här redovisas resultat och slutsatser från ett projekt inom ett forskningsprogram som drivs av Energiforsk. Det är författarna som ansvarar för innehållet.

Sammanfattning

Samtliga ålar som sätts ut i svenska vatten är sedan 2009 kemiskt märkta med strontium. För att detektera strontiummärkningen utförs kemisk analys av ålens otoliter (hörselstenar), vilket kräver att ålen avlivas innan en analys är möjlig då otoliterna sitter i ålens huvud. Skulle det gå att ersätta otoliterna för att detektera strontiummärkningen med någon annan typ av vävnad som inte kräver att ålen avlivas?

I detta pilotprojekt undersökte vi om det går att detektera strontiummärkningen i fenorna från strontiummärkta småålar. Vi preparerade och analyserade kemiska sammansättningen i otoliter, bröstfenor och stjärtfenor från 30 strontiummärkta småålar. Strontiummärkningen detekterades för samtliga småålar med deras otoliter men vi kunde inte detektera strontiummärkningen för någon individ med deras fenor.

För ett stort antal fiskarter har fenprover framgångsrikt använts för att analysera skillnader i strontiumkoncentrationer för att kartlägga fiskens vandringar mellan vattenförekomster. Vi kunde inte detektera strontiummärkningen i ålens fenor denna pilotstudie vilket kan bero på strontium inte lagras in i ålens fenor på samma sätt som hos andra fiskar varför deras fenor inte kan ersätta otoliter för att detektera strontiummärkningen. Att vi inte kunde detektera strontiummärkningen kan också bero på att vi använde oss av för små ålar. För att säkerställa att ålens fenor inte kan ersätta dess otoliter skulle ytterligare kemiska analyser behöva utföras för att möjliggöra en jämförelse av strontiumkoncentrationen i fenorna mellan märkta och omärkta ålar av samma storlek och ålder för att säkerställa att fenorna inte kan ersätta ålens otoliter.

Att arbeta och forska för att utveckla icke-dödliga insamlingsmetoder för att detektera strontiummärkningen hos utsatt ål är högst önskvärt då ålen klassas som akut hotad då dess populationsstorlek idag är 1-5 % av vad den var under perioden 1960-1979. Utveckling av icke-dödliga insamlingsmetoder skulle möjliggöra nya typer av utvärderingsstudier gällande ålutsättningar, exempelvis genom att jämföra vandringsbeteende mellan utsatt och naturligt rekryterad ål med exempelvis märkningsstudier som i regel kräver att ålens ursprung är känt innan märkningen sker.

Nyckelord

Anguilla anguilla, Fenprov, Fältemissionsmikrosond, Icke-dödliga insamlingsmetoder, Kemisk märkning, microXRF, Otoliter, Utsättningar, Strontium.

Summary

Since 2009, all restocked eels released into Swedish waters have been chemically tagged with strontium. The strontium tag can be detected by chemically analysing their otoliths (ear stones) which requires that the eel is killed since the otoliths are places within the eel's head. Would it be possible to replace the otoliths with some other type of tissue to detect the strontium tag that does not require killing the eel?

In this pilot study, we investigated whether it was possible to detect the strontium tagging in the fins of strontium tagged eels. We prepared and analysed the chemical composition of otoliths, pectoral and caudal fins from 30 small strontium-tagged eels. The strontium tag was detected for all eels using their otoliths, but we could not detect the strontium tag for any individual using their fins.

For a large number of fish species, fin samples have been successfully used to analyse differences in strontium between individuals. We could not detect the strontium tagging in the fins of the eels what was included in this pilot study, which may be because strontium is not stored in the eel's fins in the same way as in other fish and therefore, their fins cannot replace otoliths to detect the strontium tag. In order not to guarantee that the eel's fin cannot replace their otoliths for detecting the strontium tag, additional chemical analyses should be performed to enable comparisons of the strontium concentration in the fins between tagged and untagged eels of the same size and age to ensure that the fins cannot replace the eel's otoliths.

Developing non-lethal sampling methods to detect the strontium tag in eels is highly desirable as the European eel is currently classified as critically endangered as its current population size is 1-5% of what it was during the time period 1960-1979. The development of non-lethal sampling methods could also enable new types of evaluation studies regarding restocking of eels, for example by comparing migration behaviour between restocked and naturally recruited eels using tagging studies which often require that the eel's origin is known prior to the tagging event.

Innehåll

1	Introduktion	7
2	Material och metoder	9
2.1	Preparering av otoliter och fenprov	11
2.1.1	Otoliter	11
2.1.2	Fenor	11
2.2	Kemisk analys av otoliter och fenprov	13
3	Resultat	15
3.1	Detektion av strontiummärkningen i ålarnas otoliter	15
3.2	Preparering av fenor	16
3.3	Ingen detektion av strontiummärkningen i ålens fenor	17
3.4	ANalysresultat från microXRF	22
4	Diskussion	25
5	Slutsats	27
6	Referenslista	28
Bilaga A:	Bilder på preparering av otoliter och fenor från småålar	30
Bilaga B:	Resultat från BSE och linjeanalyser av otoliter och fenprov	32

1 Introduktion

Den Europeiska ålen (*Anguilla anguilla*) är klassad som akut hotad enligt IUCN och dess totala populationsstorlek skattas idag till ca 1-5 % jämfört med dess storlek under 1960-1979¹. Orsakerna till denna nedgång är flera men de primära anledningarna är (och har under relativt lång tid varit) ett högt fisketryck, minskad tillgänglighet till lämpliga uppväxthabitat på grund av vandringshinder i rinnande vatten, dödlighet associerad till vattenkraftverk och klimatförändringar^{Fel! Bokmärket är inte definierat.}.

För att bromsa den negativa populationsutvecklingen för den europeiska ålen beslöt EU-kommissionen att samtliga medlemsländer skulle införa en nationell ålförvaltningsplan² med syftet att populationens storlek skulle återhämta sig till 40 % av vad den skulle ha varit utan antropogen påverkan. Efter detta togs det fram en adaptiv nationell ålförvaltningsplan som beskriver hur förvaltningsmålet om 40 % skulle uppnås i Sverige, vilken trädde i kraft 2009³. En av de åtgärder som ingår i den svenska ålförvaltningsplanen är utsättningar av småålar (glasålar och små gulålar), med en definierad målsättning att 2,5 miljoner småålar ska sättas ut årligen. Tidigare köptes utsättningsålarerna in från England men efter brexit-avtalet har de istället köpts in från Frankrike. Ålutsättningar kan även ske av andra aktörer och av andra orsaker än för att uppfylla målen i ålförvaltningsplanen. Till exempel kan utsättning av ål ingå i vattenkraftverkens vattendomar, och/eller sättas ut av fiskevårdsföreningar.

För att kunna särskilja ål som köpts in och transporterats från England och/eller Frankrike och satts ut i svenska vatten från naturligt rekryterad ål så märks de ålar som ska sättas ut. Märkningen görs kemiskt under den tid då ålen hålls i karantän vid Scandinavian Silver Eel (SSE), och går att detektera i ålens otoliter (hörselstenar), med en märkningsframgång på över 99 %⁴. Den kemiska märkningen startade i stor skala 2009 har sedan dess utförts för samtliga småålar som satts ut i Sverige (ca 30 miljoner individer under perioden 2009-2022). Ålarna märks kemiskt genom att strontiumklorid (SrCl_2) tillsätts i vattnet vilka småålarerna får simma i under ca 30 dagar. Därefter flyttas ålarna till vatten utan strontiumklorid där de hålls i karantän i minst 40 dagar till innan utsättning. För ål som ska sättas ut i Sverige görs denna märkning en gång medan ålar som ska sättas ut i Finland märks två gånger med ca 30 dagars mellanrum för att möjliggöra särskiljning av dessa^{Fel! Bokmärket är inte definierat.}. Den kemiska märkningen går sedan att detektera i otoliterna där ett band med kraftigt förhöjd Sr-koncentration tydligt framgår vid kemisk analys. Den kemiska sammansättningen av ålens otoliter kan analyseras med olika typer av instrument och metoder där laserablation induktivt kopplad plasmamasspektrometri (LA-ICP-MS), mikroröntgenfluorescens (microXRF) och fältemissionsmikrosonder (FE-EPMA)

¹ (ICES 2021)

² (EG nr 1100/2007)

³ (Jordbruksverket 2008)

⁴ (Wickström & Sjöberg 2014)

utrustad med kristallspektrometrar (WDS) och reflekterande elektrondetektorer (BSE) frekvent använts^{Fel! Bokmärket är inte definierat.,5,6,7.}

Otoliter är placerade i fiskens inre hörsel- och balansorgan och för att provta dessa krävs det att fisken avlivas⁸. Under 2000-talet har forskning kring möjligheterna att använda andra vävnader än otoliter för kemisk analys och åldersbestämning av fisk utvecklats med stor framgång^{9,10,11,12}. En typ av vävnad som frekvent har använts för kemisk analys och åldersläsning av olika fiskarter framgångsrikt är tvärsnitt av fenstrålar från fiskfenor^{Fel! Bokmärket är inte definierat.,Fel! Bokmärket är inte definierat.,Fel! Bokmärket är inte definierat.,13,14}. Fördelen med att använda sig av ett fenprov är att en del av en fena kan samlas in direkt i fält utan att fisken behöver avlivas. Användande av fenprov skulle därför kunna reducera antalet individer som behöver avlivas för forskningsändamål och miljöövervakning, vilket är speciellt önskvärt för hotade arter som samlas in med icke-dödande metoder såsom elfiske och ryssjor (metoder som ofta används för insamling av ål). Utöver detta så samlas även fenprover in från flera olika fiskarter systematiskt för genetiska analyser^{15,16}, prover som också potentiellt skulle kunna användas för åldersbestämning och kemisk analys.

Syftet med denna pilotstudie var att undersöka om det går att använda ålens fenor istället för dess otoliter för att detektera den strontiummärkning som samtliga småålar bär på som satts ut i Sverige sedan 2009. Om ålens fenor går att använda skulle fenprover kunna ersätta otoliter och minska mängden ål som behöver avlivas för forsknings- och miljöövervakningssyfte. Det skulle också öppna upp nya möjligheter gällande studier för att utvärdera effekterna av ålutsättningar, exempelvis via märkningsstudier som jämför vandringsbeteendet för utsatt ål mot naturligt rekryterad ål, vilket i regel kräver att ålen lever och att ursprunget är känt innan märkning.

⁵ (Limburg et al. 2011)

⁶ (Heimbrand et al. 2020)

⁷ (Finnäs et al. 2020)

⁸ (Campana 1999)

⁹ (Clarke et al. 2007)

¹⁰ (Murie et al. 2009)

¹¹ (Tzadik et al. 2017)

¹² (Avigliano et al. 2019)

¹³ (Hobbs et al. 2014)

¹⁴ (Rude et al. 2014)

¹⁵ (Wasko et al. 2003)

¹⁶ (Wennerström et al. 2013)

2 Material och metoder

Otoliter och fenprover från totalt 30 strontiummärkta småålar preparerades i laboratorium vid både Sötvattens- och Kustlaboratoriet vid institutionen för Akvatiska resurser, Sveriges lantbruksuniversitet, SLU Aqua (Tabell 1).

Av de 30 ålar som ingick i studien var 15 småålar som köptes in från SSE 2012 för framtida kontroller av strontiummärkning och som förvarats i frys på Sötvattenslaboratoriet sedan inköpet. Fem av dessa individer var märkta två gånger. Resterande 15 småålar köptes in från SSE under 2022 för andra forskningssyften och förvarades i etanol från augusti 2022 fram till prepareringstillfället i slutet av november 2022. Samtliga ålar mättes (mm) och vägdes (gram) innan deras otoliter och fenor samlades in (Tabell 1, Bilaga A, Fig. A1).

Tabell 1. Individdata för de 30 strontiummärkta småålar som ingick i pilotstudien. ID visar småålarnas unika ID-nummer.

ID	Förvaring	Längd (mm)	Vikt (g)	Otoliter	Fenprov stjärtfena	Fenprov bröstfena	Antal märkn- ingar
1	Frys sedan 2012	97	1,31	1	Ja	Ja	2
2	Frys sedan 2012	106	1,56	1	Ja	Ja	2
3	Frys sedan 2012	115	2,18	1	Ja	Ja	2
4	Frys sedan 2012	100	1,39	1	Ja	Ja	2
5	Frys sedan 2012	81	0,73	1	Ja	Ja	2
6	Frys sedan 2012	111	1,92	1	Ja	Ja	1
7	Frys sedan 2012	106	1,50	1	Ja	Ja	1
8	Frys sedan 2012	101	1,08	1	Ja	Ja	1
9	Frys sedan 2012	104	1,39	1	Ja	Ja	1
10	Frys sedan 2012	103	1,38	1	Ja	Ja	1
11	Frys sedan 2012	100	1,29	1	Ja	Ja	1
12	Frys sedan 2012	94	1,16	1	Ja	Ja	1
13	Frys sedan 2012	92	1,08	1	Ja	Ja	1
14	Frys sedan 2012	110	1,70	1	Ja	Ja	1

ID	Förvaring	Längd (mm)	Vikt (g)	Otolit- er	Fenprov stjärtfena	Fenprov brösthena	Antal märkn- ingar
15	Frys sedan 2012	94	1,12	1	Ja	Ja	1
16	Etanol sedan augusti 2022	155	6,31	1	Ja	Ja	1
17	Etanol sedan augusti 2022	156	5,39	0	Ja	Ja	1
18	Etanol sedan augusti 2022	158	5,48	1	Ja	Ja	1
19	Etanol sedan augusti 2022	141	3,99	1	Ja	Ja	1
20	Etanol sedan augusti 2022	163	7,35	1	Ja	Ja	1
21	Etanol sedan augusti 2022	139	3,98	1	Ja	Ja	1
22	Etanol sedan augusti 2022	137	3,21	1	Ja	Ja	1
23	Etanol sedan augusti 2022	171	7,38	1	Ja	Ja	1
24	Etanol sedan augusti 2022	173	6,79	1	Ja	Ja	1
25	Etanol sedan augusti 2022	149	4,59	1	Ja	Ja	1
26	Etanol sedan augusti 2022	164	6,34	1	Ja	Ja	1
27	Etanol sedan augusti 2022	142	3,96	1	Ja	Ja	1

ID	Förvaring	Längd (mm)	Vikt (g)	Otoliter	Fenprov stjärtfena	Fenprov bröstfena	Antal märkn- ingar
28	Etanol sedan augusti 2022	132	3,57	1	Ja	Ja	1
29	Etanol sedan augusti 2022	158	5,08	1	Ja	Ja	1
30	Etanol sedan augusti 2022	152	5,50	1	Ja	Ja	1

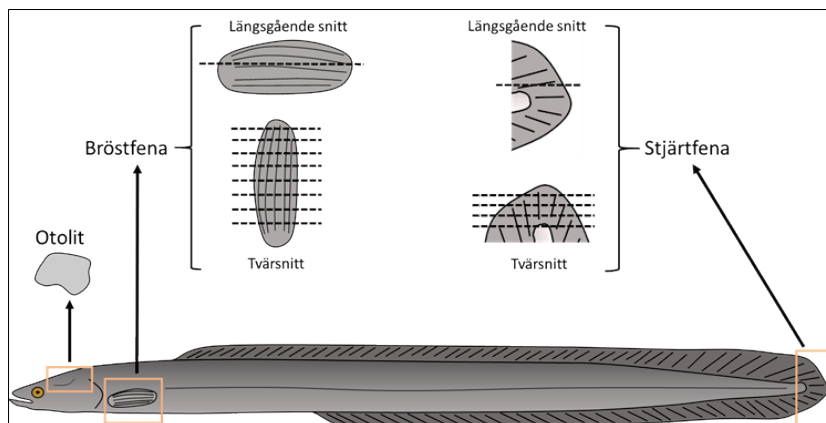
2.1 PREPARERING AV OTOLITER OCH FENPROV

2.1.1 Otoliter

Ålarnas huvud skars upp med en skalpell och deras otoliter togs ut med hjälp utav en pincett under lupp. En otolit per ål placerades i ingjutningsformar av silikon och gjöts in i epoxy (Struers Epofix, Bilaga A) tillsammans med ålens unika individnummer (Tabell 1). Efter att epoxyn härdat våtslipades otoliten med slippapper av olika kornstorlek tills att kärnan exponerades. Därefter polerades otoliten med poleringsmedel (Buehler's MetaDi diamond polishing suspension 1 µm) för att få en slät exponeringsyta (Bilaga A, Fig. A2). De preparerade otoliterna monterades sedan med dubbelhäftande tejp på täckglas (28 x 48mm) (Bilaga A, Fig. A2).

2.1.2 Fenor

Ålarnas bröstfenor klipptes så nära basen som möjligt mot kroppen. En bröstfena användes för att göra tvärsnitt och den andra för att göra längsgående snitt från fenans bas till dess spets (Fig. 1). Ålarnas stjärtfena klipptes av så nära basen mot kroppen som möjligt. För fyra individer (individ 25-29, Tabell 1) delades stjärtfenan på mitten varav den ena halvan användes för att göra ett tvärsnitt och den andra för att göra längsgående snitt från bas till spets.



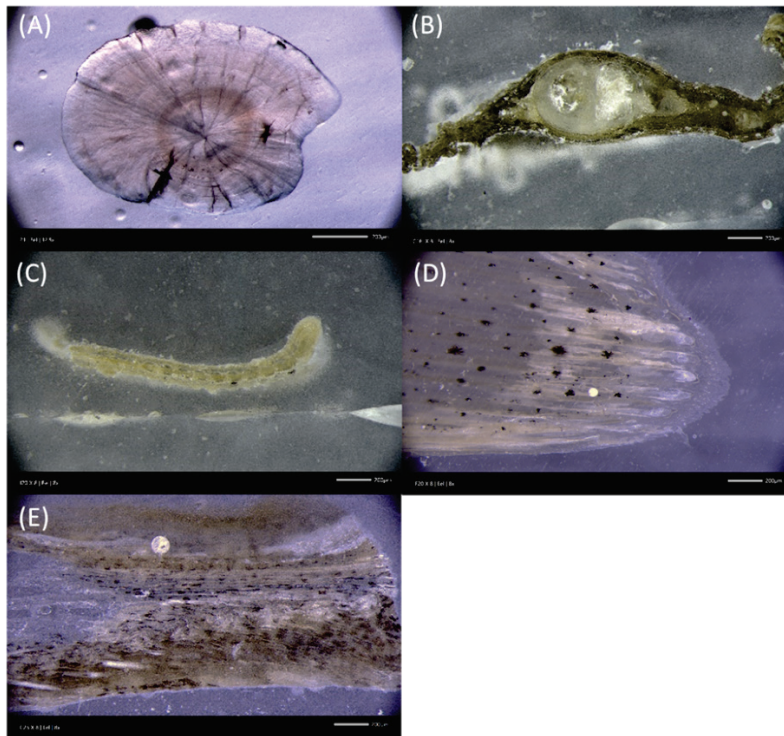
Figur 1. Schematisk skiss som visar vilka vävnader från de strontiummärkta ålarna som ingick i studien. Streckade linjer visar hur tvärsnitt och längsgående snitt utfördes för bröst- respektive stjärtfena.

Tvärsnitt av fenor

Ålarnas stjärtfenor monterades i epoxyblock på rad med basen ned och spetsen upp. När fenorna lagts på rad gjöts de in i blocket genom att ytterligare ett lager epoxy tillsattes så att det täckte fenorna helt. Efter att epoxyn härdats, monterades epoxyblocket i en speciell såg (Struers Accutom-50), med vilken tvärsnitt av fenorna (0,2 mm) från spets till bas sågades (Fig. 1, Bilaga A, Fig. A3). Varje rad med tvärsnitt undersöktes sedan med mikroskop, och det tvärsnitt där fenornas fenstrålar var mest exponerade för respektive individ och fentyp (bröst- respektive stjärtfena) valdes ut för analys (Fig. 2B & Fig. 2C). Utvalda tvärsnitt skars sedan ut från raden med tvärsnitt med en uppvärmd skalpell och monterades med dubbelhäftande tejp på täckglas (28 x 48 mm) (Bilaga A, Fig. A3).

Längsgående snitt av fenor från bas till spets

För att preparera längsgående snitt av bröst- och stjärtfenor användes samma typ av metodik som för otoliterna, dvs. att enskilda fenor gjöts in i epoxy i ingjutningsformar, härdades och slipades ned. Det visade sig svårt att montera fenorna så att det gick att slipa ett rakt längsgående snitt från bas till dess spets då fenorna ändrade form och rörde på sig under härdningstiden i epoxyn. Det gick dock att exponera delar av fenornas fenstrålar med hjälp av slipning med denna metod (Fig. 2D och 2E). De preparerade längsgående snitten av bröst- och stjärtfenor monterades med dubbelhäftande tejp på täckglas (28 x 48 mm) (Bilaga A, Fig. A3).



Figur 2. Fotografier som visar hur otoliter och fenor preparerades för att undersöka om det gick att detektera strontiummärkning i ålars fenor. **(A)** monterad och slipad otolit med exponerad kärna, **(B)** tvärsnitt av en stjärtfena, **(C)** tvärsnitt av en bröstfena, **(D)** längsgående kort snitt av en bröstfena vid dess bas, **(E)** längsgående snitt av en del av en stjärtfena.

2.2 KEMISK ANALYS AV OTOLITER OCH FENPROV

Den kemiska analysen av otoliter och fenprover utfördes med en fältemissionsmikrosond (FE-EMPA), utrustad med fyra kristallspektrometrar (WDS) och sekundära samt reflekterande elektron-detektorer (BSE), vid Institutionen för Geovetenskaper på Uppsala universitet. Denna fältemissionsmikrosond skannar ytan på preparaten och skapar tvådimensionella mappingar som påvisar skillnader i den kemiska sammansättningen i otoliter och fenprover tack vare BSE utrustningen (Fig. 3B). Det går också att utföra linjeanalyser för att erhålla relativa förändringar i koncentrationen av olika grundämnen på provets yta längs med en bestämd linje (Fig. 3C) samt utföra spot-analyser för att erhålla fördelningen av olika grundämnen (vikt %) i en och samma punkt tack vare WDS utrustningen (Fig. 3D). Samtliga prover analyserades med BSE och fotograferades (Bilaga B). För samtliga otoliter utfördes även linjeanalyser för att validera att märkningsringen i otoliterna som identifierats med BSE motsvarade strontiummärkningen och för att säkerställa fältemissionsmikrosondens funktion. För en otolit utfördes även spot-analys för att säkerställa att även den analysmetoden fungerade. Spot-analysen utfördes i otolitens kärna, på märkningsringen och utanför märkningsringen. För en del av fenproverna utfördes linje- och spot-analyser. Utöver analysen med fältemissionsmikrosonden skickades två täckglas med prover (ett med otoliter och ett med tvärsnitt av fenor) för analys med microXRF (Bruker M4 Tornado) på

Institutionen för Geografi och Geologi vid Åbo universitet för att jämföra resultaten mellan de två olika instrumenten.

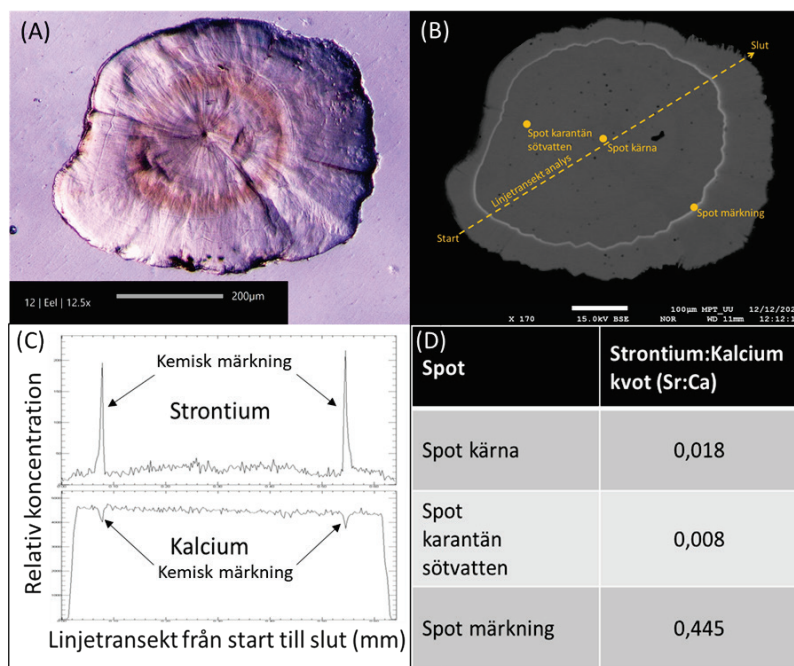
Innan analysen med fältemissionsmikrosonden på Uppsala universitet gick att utföra behövdes proven kolbeläggas med ett tunt lager kol vilket görs med en kolbeläggningsmaskin. De två kolbeläggningsmaskinerna som fanns på plats vid Uppsala universitet var trasiga varför kolbeläggningen fick utföras vid Naturhistoriska riksmuseet i Stockholm. Efter det att kolbeläggning var klar testades proverna vid Uppsala universitet och det visade sig att kollagret var för tunt för att analysera proverna i fältemissionsmikrosoden. Proverna transporterades därför ytterligare en gång till Naturhistoriska riksmuseet i Stockholm för en ytterligare kolbeläggning. Efter den andra kolbeläggningen var kollagret tillräckligt tjockt för de flesta av proverna och den stora majoriteten gick att analysera med fältemissionsmikrosonden vid Uppsala universitet (Bilaga B). På grund utav att kolbeläggning var för tunn försenades analysen vid Uppsala universitet med tre veckor. De kemiska analyserna utfördes vid Uppsala universitet under 12-15 december 2022.

Kemiska analysen med microXRF som utfördes på Institutionen för Geografi och Geologi vid Åbo universitet kräver ingen kolbeläggning inför analys och instrumentet analyserar proverna automatiskt. Analysen genererar färg-kartor som visar hur koncentration av olika grundämnen varierar i de prover som analyseras. En stark färg innebär en hög koncentration och en avsaknad av färg innebär en låg koncentration av ett visst grundämne och varje grundämne har en egen unik färg.

3 Resultat

3.1 DETEKTION AV STRONTIUMMÄRKNINGEN I ÅLARNAS OTOLITER

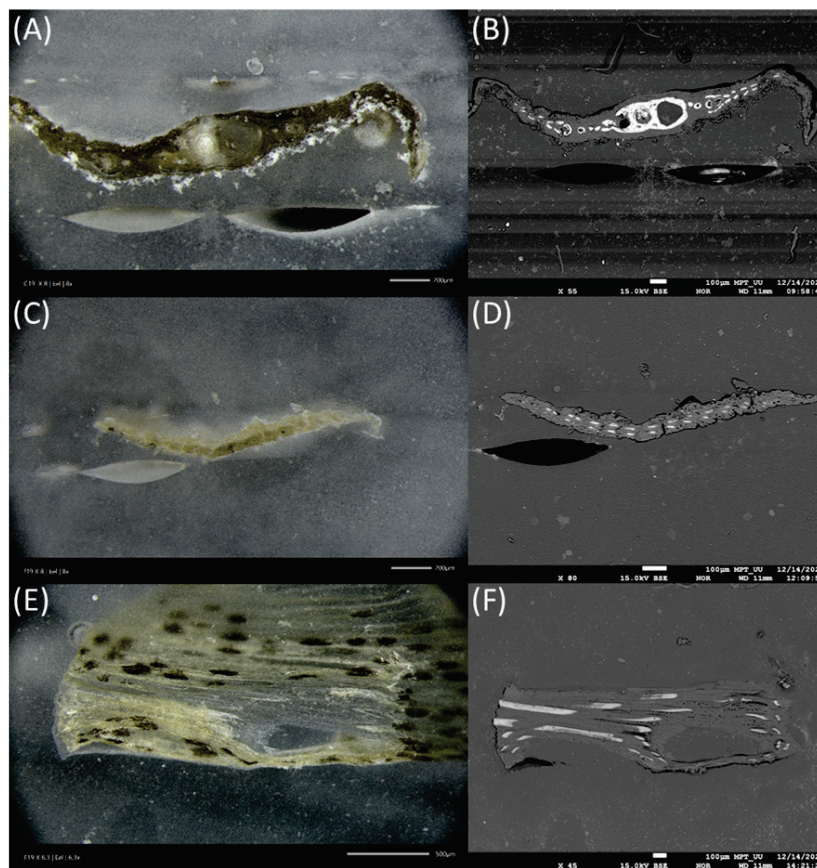
Resultaten från de kemiska analyserna av småållarnas otoliter visade att de individer som ingick i studien var strontiummärkta. För 26 av de 29 ålar som analyserades med fältemissionsmikrosonden vid Uppsala universitet detekterades den kemiska märkningen i deras otoliter med hjälp av BSE. För 21 av dessa bekräftades att småållarna var strontiummärkta då linjeanalyserna visade tydliga toppar av strontium motsvarande märkningen i otoliterna (Fig. 3, Tabell 2, Bilaga B). För individ nummer 17 gick den ena otoliten sönder vid dissektion och den andra hittades inte varför ingen otolit från denna individ preparerades. För otoliterna från individ nummer 19, 20 och 21 var kolbeläggningen för tunn för att fältemissionsmikrosonden skulle kunna detektera samt mäta strontiummärkningen varför det inte gick att avgöra om dessa ålar var kemiskt märkta eller inte (Tabell 2, Bilaga B). För fyra otoliter (individ 15, 16, 22 och 24) detekterades märkningen med BSE men kollagret var för tunt för att kunna bekräfta att ringen som tydligt detekterades med BSE återspeglar en förhöjd strontiumkoncentration (även om det är högst sannolikt att dessa småålar var märkta med strontium) (Tabell 2, Bilaga B).



Figur 3. Exempeldata från en otolit från en strontiummärkt ål (individ nummer 12, 94 mm, 1,16 g). (A) slipad och preparerad ålotolit fotograferad i mikroskop, (B) fotografi på samma otolit tagen i en fältemissionsmikrosond utrustad med reflekterande elektron-detektorer (BSE) där en förändring i otolitens färg motsvarar en förändring i otolitens kemiska sammansättning, streckad pil visar var på otoliten linjeanalysen utfördes och punkterna visar var på otoliten spot-analyser utfördes, (C) resultat av linjeanalys där x-axeln är avstånd från startpunkten och y-axeln visar relativa koncentrationen av strontium (övre panelen) och kalcium (nedre panelen) där topparna i strontium och sänkorna i kalcium sammanfaller med den ljusgrå ring som syns i bild (B). (D) kvoten av strontium till kalcium i otoliten för spot-analyserna i kärnan, i sötvatten och vid strontiummärkningen, där en hög kvot innebär en hög koncentration av strontium.

3.2 PREPARERING AV FENOR

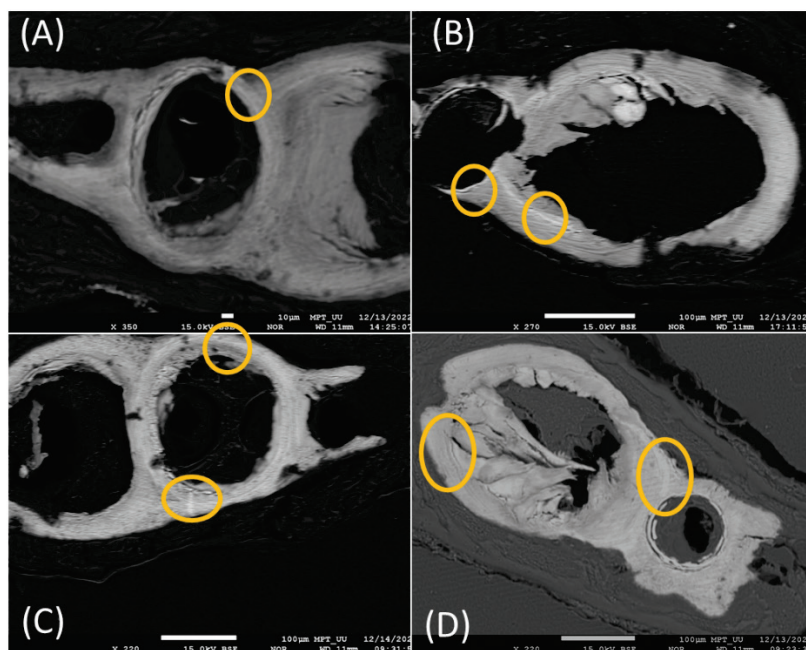
För fenprov var preparering av tvärsnitt med såg för både stjärt- och bröstfena den prepareringsmetod som var mest effektiv i laboratoriet och som gav prover med störst exponerad yta för kemisk analys (Fig. 2 & Fig. 4). Metoden var snabb (snabbare än att preparera otoliter), enkel att upprepa och många tvärsnitt kunde monteras på ett och samma täckglas jämfört med längsgående snitt och otoliter (Bilaga A), vilket gjorde preparering tidseffektiv. Att preparera längsgående snitt av fenorna visade sig vara svårt då fenan inte låg kvar i sin position under tiden epoxyn härdade vilket gjorde att endast en liten del av fenans fenstrålar exponerades för kemisk analys efter slipning. Utöver det tog prepareringen av längsgående snitt minst lika lång tid att utföra som prepareringen av otoliter. Tvärsnitten av stjärtfenorna hade mest exponerat material då fenstrålarna var större i stjärtfenan jämfört med i bröstfenan (jämför ljusa områden i Fig. 4B mot Fig. 4D).



Figur 4. Exempelbilder på preparerade fenor från en ålindivid (nummer 19, 141 mm, 3,99 g). (A) och (B) tvärsnitt av stjärtfena fotograferat i (A) mikroskop och (B) i en fältemissionsmikrosond med reflekterande elektrondetektorer (BSE), (C) och (D) tvärsnitt av bröstfena fotograferat i mikroskop (C) och (D) i en fältemissionsmikrosond med reflekterande elektrondetektorer (BSE) och (E) och (F) längsgående snitt av en bröstfena fotograferat i (E) mikroskop och (F) i en fältemissionsmikrosond med reflekterande elektrondetektorer (BSE). Ljus färg i bilderna (B), (D) och (F) är exponerat material i ålens fenor som detekterats av fältemissionsmikrosonden.

3.3 INGEN DETEKTION AV STRONTIUMMÄRKNINGEN I ÅLENS FENOR

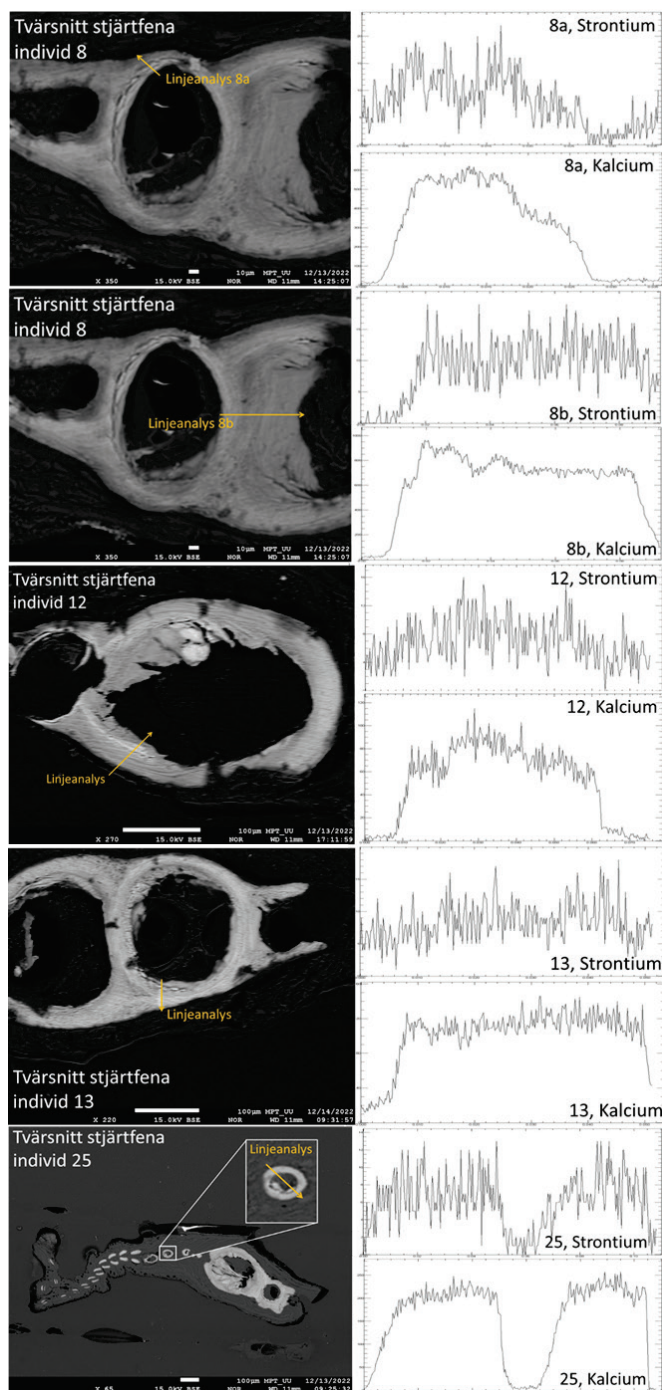
Det gick inte att detektera den kemiska märkningen med strontium i fenproverna för någon av individerna visuellt med hjälp av BSE. I vissa fenprover fanns dock en antydning till förändringar i fenstrålarnas kemiska sammansättning, indikerat av en färgskiftning i fenstrålarna (Fig. 5).



Figur 5. Exempelbilder på tvärsnitt av stjärtfenor från strontiummärkta småålar fotograferade med en fältemissionsmikroskond utrustad med reflekterande elektrondetektorer (BSE). En antydning till förändring i fenstrålens kemiska sammansättning går att se i form av en färgskiftning i de ljusa områdena (fenstrålarna), markerat med orange cirklar. (A) individ nummer 8, (B) individ nummer 12, (C) individ nummer 13 och (D) individ nummer 25.

Linjeanalyserna som utfördes på tvärsnitt av stjärtfenor från individ 8, 12, 16 och 25 (de prover som visade en antydning till färgskiftning på bilderna tagna med BSE) visade inga tydliga toppar i strontium (Fig. 6, jämför med Fig. 3C). För resterande individer för vilka linjeanalys utfördes detekterades inte heller några toppar i den relativa koncentrationen av strontium i deras fenor (Tabell 2).

Strontiummärkningen kunde inte heller detekteras i tvärsnitt av bröstfenor och inte heller i längsgående snitt av stjärt- eller bröstfenor, med undantag för att det eventuellt skulle kunna vara en topp i strontium i bröstfenan från individ nummer 3 och individ nummer 19 (Fig. 7). Spot-analyserna som utfördes på en del av tvärsnitten visade på stor variation i kalcium och liten variation i strontium i småålarnas fenstrålar (Fig. 8, Tabell 3).

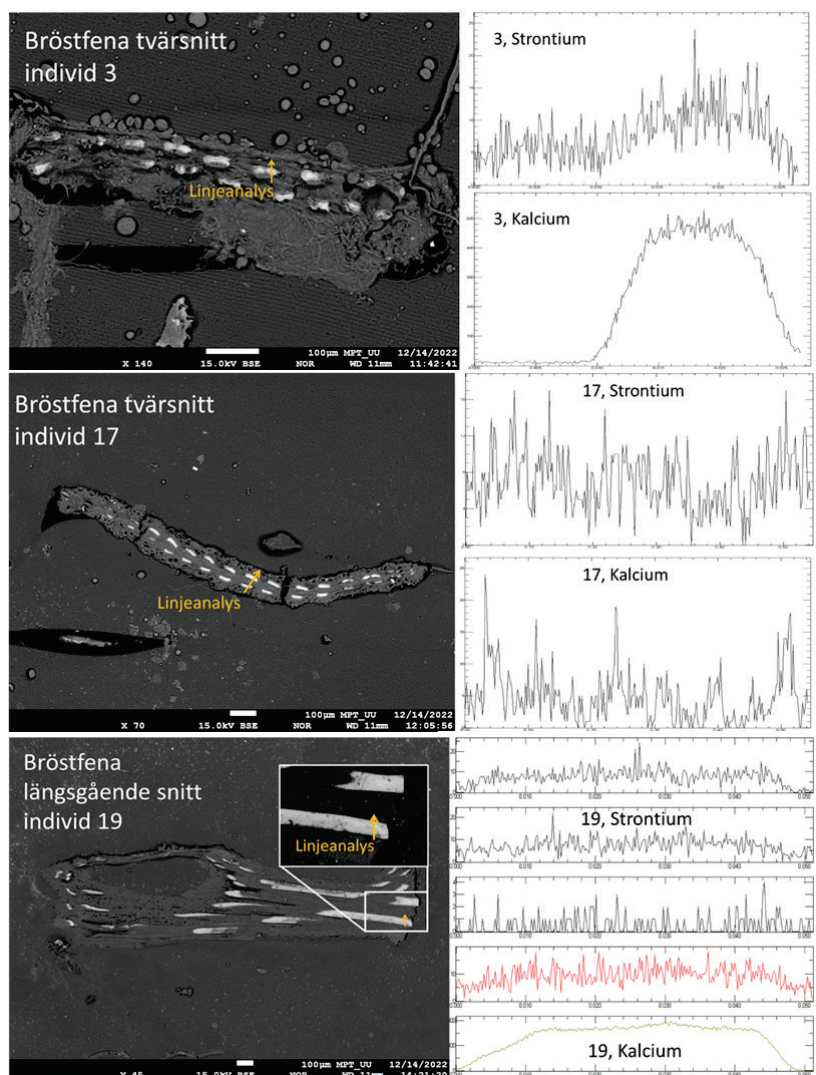


Figur 6. Resultat av linjeanalyser utförda på tvärsnitt av stjärtenor från strontiummärkta småålar (individ 8, 12, 13 och 25). Vänster panel: bilder på tvärsnitten tagna i elektronmikroskop utrustat med reflekterande elektrondetektorer (BSE) där ljusa områden är fenstrålar i stjärtenorna. Orangea pilar visar start och stop för linjeanalyserna som utfördes på respektive tvärsnitt. Höger panel: relativa förändringen av strontium och kalcium för respektive linjeanalys. X-axeln i samtliga grafer är avstånd från startpunkten, vilken motsvarar början på pilarna i vänster panel.

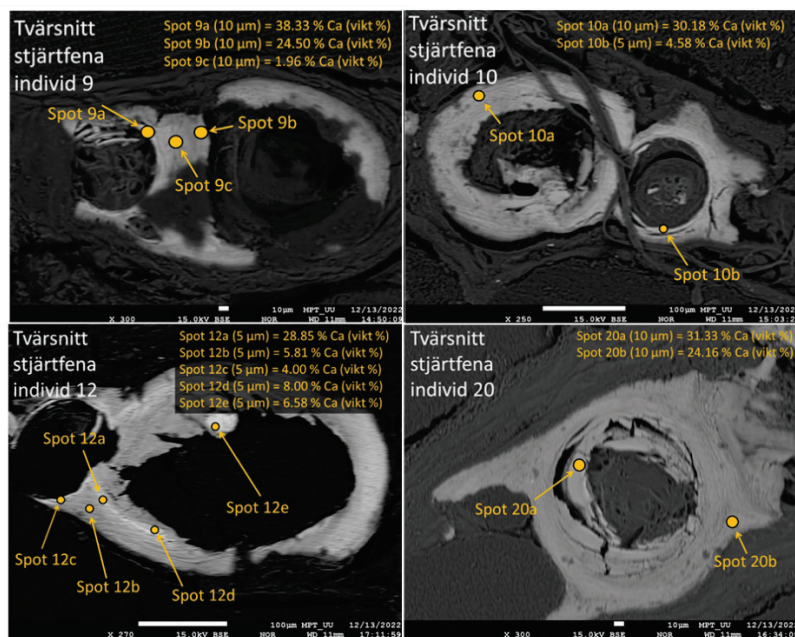
Tabell 2. Summering över vilka otoliter och fenprov där strontiummärkningen detekterades och med vilken typ av analys. Detektion med BSE innebär att en förändring i provets kemiska struktur gick att se visuellt som en tydlig ljus ring. Detektion med linjeanalys innebär att den relativa förändringen av strontiumkoncentration i provet visade på tydliga toppar av strontium som var betydligt högre än den naturliga variationen i provets relativa strontiumkoncentration. Detektion med spot-analys visar att kvoten strontium mot kalcium var betydligt högre i det område där märkningen detekterades visuellt i provet med BSE. Otoliter från individ nummer 1-14

och tvärsnitt av stjärtfena från individ nummer 1-24 skickades för analys med microXRF. Detektion med microXRF innebar att en tydlig ring av stark intensiv färg motsvarande en förhöjd strontiumkoncentration gick att se visuellt i provet. ID visar småållarnas unika ID-nummer.

ID	Detektion av strontiummärkning i otolit och metod	Detektion av strontiummärkning i fenprov och metod
1	Ja (BSE, Linjeanalys, microXRF)	Nej (BSE, Linjeanalys, microXRF)
2	Ja (BSE, Linjeanalys, microXRF)	Nej (BSE, Linjeanalys, microXRF)
3	Ja (BSE, Linjeanalys, microXRF)	Nej (BSE, Linjeanalys, Spotanalys, microXRF)
4	Ja (BSE, Linjeanalys, microXRF)	Nej (BSE, Linjeanalys, microXRF)
5	Ja (BSE, Linjeanalys, microXRF)	Nej (BSE, Linjeanalys, microXRF)
6	Ja (BSE, Linjeanalys, microXRF)	Nej (BSE, Linjeanalys, microXRF)
7	Ja (BSE, Linjeanalys, microXRF)	Nej (BSE, Linjeanalys, microXRF)
8	Ja (BSE, Linjeanalys, microXRF)	Nej (BSE, Linjeanalys, microXRF)
9	Ja (BSE, Linjeanalys, microXRF)	Nej (BSE, Linjeanalys, Spotanalys, microXRF)
10	Ja (BSE, Linjeanalys, microXRF)	Nej (BSE, Linjeanalys, Spotanalys, microXRF)
11	Ja (BSE, Linjeanalys, microXRF)	Nej (BSE, Linjeanalys, microXRF)
12	Ja (BSE, Linjeanalys, Spotanalys, microXRF)	Nej (BSE, Linjeanalys, Spotanalys, microXRF)
13	Ja (BSE, Linjeanalys, microXRF)	Nej (BSE, Linjeanalys, microXRF)
14	Ja (BSE, Linjeanalys, microXRF)	Nej (BSE, Linjeanalys, Spotanalys, microXRF)
15	Ja (BSE)	Nej (BSE, microXRF)
16	Ja (BSE)	Nej (BSE, microXRF)
17	Ingen otolit	Nej (BSE, Linjeanalys, microXRF)
18	Ja (BSE, Linjeanalys)	Nej (BSE, Linjeanalys, microXRF)
19	Ingen analys, för tunn kolbeläggning	Nej (BSE, Linjeanalys, microXRF)
20	Ingen analys, för tunn kolbeläggning	Nej (BSE, Linjeanalys, microXRF)
21	Ingen analys, för tunn kolbeläggning	Nej (BSE, microXRF)
22	Ja (BSE)	Nej (BSE, microXRF)
23	Ja (BSE, Linjeanalys)	Nej (BSE, microXRF)
24	Ja (BSE)	Nej (BSE, microXRF)
25	Ja (BSE, Linjeanalys)	Nej (BSE, Linjeanalys)
26	Ja (BSE, Linjeanalys)	Nej (BSE)
27	Ja (BSE, Linjeanalys)	Nej (BSE)
28	Ja (BSE, Linjeanalys)	Nej (BSE)
29	Ja (BSE, Linjeanalys)	Nej (BSE)
30	Ja (BSE, Linjeanalys)	Nej (BSE)



Figur 7. Resultatet av linjeanalyser utförda på tvärsnitt samt längsgående snitt av bröstfenor från strontiummärkta småålar (individ 3, 17 och 19). Vänster panel: bilder på tvärsnitten tagna med en fältemissionsmikrosond utrustad med reflekterande elektrondetektorer (BSE) där ljusa områden är fenstrålarna i bröstfenan. Orangea pilar visar start och stop för linjeanalyserna som utfördes på respektive tvärsnitt. Höger panel: relativa förändringen av strontium och kalcium för respektive linjeanalys (för individ 19 visas även relativa koncentrationen för mangan, magnesium och barium). X-axeln i samtliga grafer är avstånd från startpunkten för linjeanalysen vilken motsvarar början på pilarna i vänster panel.



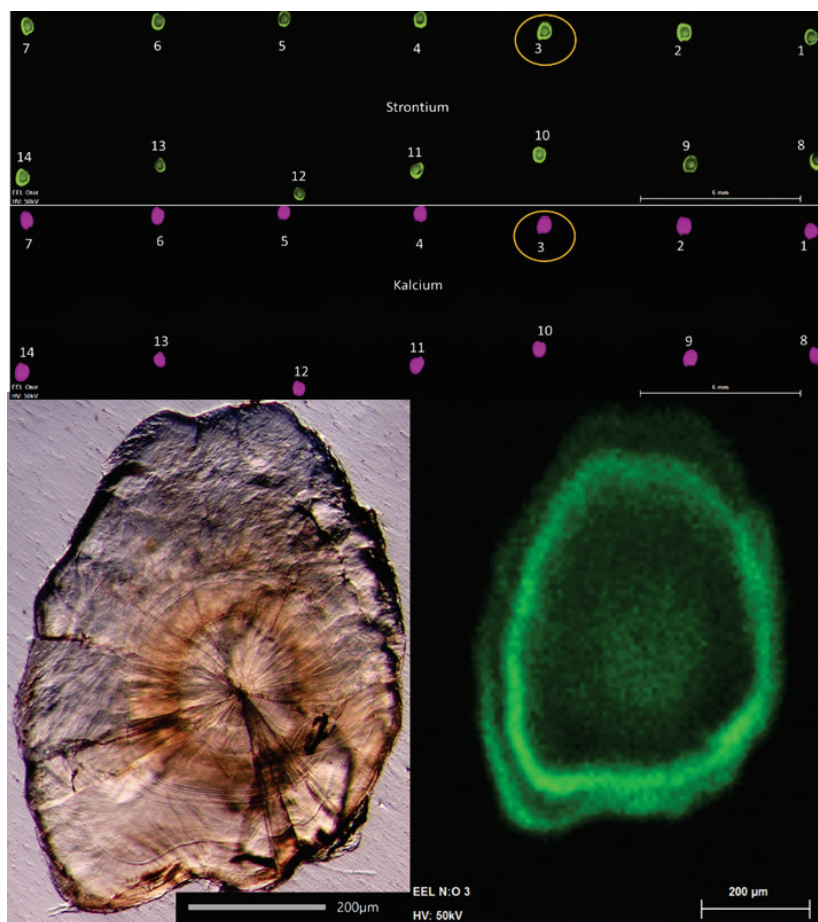
Figur 8. Resultat från spot-analys utförda på tvärsnitt av stjärtfenor från fyra strontiummärkta småålar (individ 9, 10, 12 och 20). Punkter i varje bild visar var spot-analysen utfördes och vikt % kalcium i fenstrålen vid respektive spot-analys (text i övre högra hörnet i respektive panel).

Tabell 3. Resultat från spot-analyser för vikt % av kalcium och strontium i fenprov från strontiummärkta småålar utförda med en fältemissionsmikrosond vid Uppsala universitet. ID visar småålarnas unika ID-nummer.

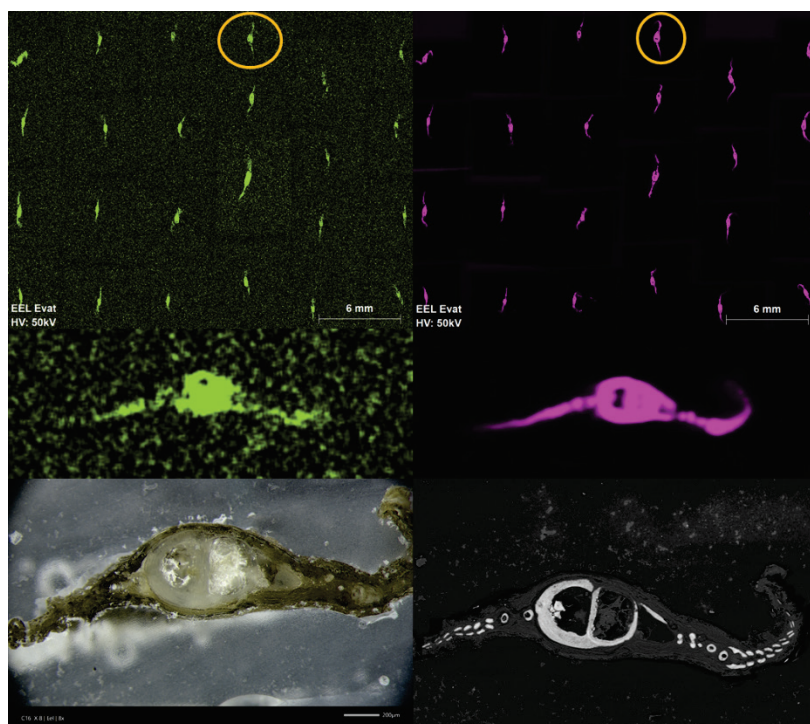
ID	Typ av fenprov	Spot-analys			
		Spot nummer	Kalcium (vikt %)	Strontium (vikt %)	Sr:Ca kvot
3	Tvärsnitt bröstfena	3	27,10	0,220	0,008
9	Tvärsnitt stjärtfena	9a	38,33	0,025	0,001
9	Tvärsnitt stjärtfena	9b	24,50	0,024	0,001
9	Tvärsnitt stjärtfena	9c	1,96	0,062	0,032
10	Tvärsnitt stjärtfena	10a	30,18	0,283	0,009
10	Tvärsnitt stjärtfena	10b	4,58	0,000	-
12	Tvärsnitt stjärtfena	12a	28,85	0,021	0,001
12	Tvärsnitt stjärtfena	12b	5,81	0,030	0,005
12	Tvärsnitt stjärtfena	12c	4,00	0,000	-
12	Tvärsnitt stjärtfena	12d	8,00	0,004	0,001
12	Tvärsnitt stjärtfena	12e	6,58	0,067	0,010
14	Tvärsnitt stjärtfena	14a	2,41	0,069	0,029
14	Tvärsnitt stjärtfena	14b	2,42	0,061	0,025
19	Längsgående snitt bröstfena	19	37,46	0,159	0,004
20	Tvärsnitt stjärtfena	20a	31,33	0,062	0,002
20	Tvärsnitt stjärtfena	20b	24,16	0,063	0,003
29	Tvärsnitt stjärtfena	29b	0,02	0,030	1,570

3.4 ANALYSRESULTAT FRÅN microXRF

Analysresultaten från microXRF-instrumentet bekräftade resultaten från fältemissionsmikrosonden; strontiummärkningen detekterades i otoliterna (Fig. 9) men inte i fenorna (Fig. 10).



Figur 9. Resultat från microXRF-analys där ett täckglas med otoliter (individ 1-14) analyserades. Övre panelen: strontium-koncentrationerna i otoliterna från individ 1-14, starkare grön färg visar högre koncentration av strontium. Mittenpanel: kalcium-koncentrationen i otoliterna från individ 1-14, starkare rosa färg visar högre koncentration av kalcium. Nedre två paneler: fotografi taget i mikroskop och strontium-koncentrationen i otoliten från individ 3, starkare grön färg visar högre koncentration av strontium.



Figur 10. Resultat från microXRF-analys där ett täckglas med tvärsnitt av stjärtfenor från strontiummärkta småålar (individ 1-24) analyserades. Övre panelen: strontium (grön) och kalcium (rosa) koncentrationer, starkare färg visar en högre koncentration av respektive ämne. Orange cirkel ringar in tvärsnittet av stjärtfenan från individ 16. Mittenpanelen: tvärsnitt från individ 16 för strontium (grön färg) och kalcium (rosa). Nedre vänster bild: fotografi på tvärsnittet av stjärtfena från individ 16, nedre höger bild: samma tvärsnitt fotograferat i en fältemissionsmikroskops utrustad med reflekterande elektrondetektorer (BSE).

4 Diskussion

Den kemiska märkningen med strontium detekterades med hög framgång i ålarnas otoliter men inte i deras fenor. Med elektronmikroskopet vid Uppsala universitet, som är utrustat med BSE, gick det snabbt att visuellt detektera strontium-märkningen i ålens otoliter, medan märkningen inte gick att detektera visuellt i fenproverna.

Med linje- och spot-analyser detekterades märkningen för de flesta av otoliterna, då tydliga toppar av hög koncentration av strontium detekterades i kombination med sänkt koncentration i kalcium. Linjeanalyserna av fenproverna samt analysen av fenornas kemiska sammansättning med microXRF visar att prepareringen av fenorna gick bra då både fältemissionsmikrosonden och microXRF kunde mäta kalciumhalten i fenstrålarna för både stjärtfenor och i bröstfenor. Dock visade både linje- och spot-analyserna att kalciumhalterna i fenstrålar varierade betydligt mer än i otoliterna, och i vissa prover var koncentrationerna mycket låga. Detta kan antingen bero på att kollagret var för tunt för att fältemissionsmikrosonden skulle kunna analysera proverna eller att ålens fenstrålar har en betydligt mer heterogen kalciumkoncentration än otoliterna. Denna heterogena kalciumkoncentration kan vara en anledning till att det inte gick att fastställa strontium-märkningen i fenorna.

Andra studier har med stor framgång kunna mäta förändringar i strontium i fenstrålar hos andra fiskarter än ål på ett tillförlitligt sätt, till exempel för arktisk harr (*Thymallus arcticus*), maskalung (*Esox masquinongy*), stör (*Acipenser oxyrinchus desotoi*), öring- och svartabborre (*Micropterus salmoide* och *M. dolomieu*), långnosad bengädda (*Lepisosteus osseus*), karpfisk (*Ictalurus punctatus*), karp (*Cyprinus carpio*), malartade fiskar (*Genidens barbatus* och *Genidens niger*), karpsläkter (*Cyprinus*) samt *C. cyprinus*), glasögonöga (*Sander vitreus*)^{Fel! Bokmärket är inte definierat., Fel! Bokmärket är inte definierat., 17, 18, 19.} Ålens, och även andra fiskars otoliter är hårda biomineraler bestående av framförallt kalciumkarbonat (aragonit)^{Fel! Bokmärket är inte definierat.} medan ålens fenstrålar visade sig vara genomskinliga och mjuka med ett varierat kalciuminnehåll. Detta skulle kunna tyda på att ålens fenstrålar inte växer på samma sätt som dess otoliter och inte heller som fenstrålarna hos andra fiskarter som visar på tydliga strukturer^{Fel! Bokmärket är inte definierat., Fel! Bokmärket är inte definierat., Fel! Bokmärket är inte definierat.}, utan att de påminner mer om mjuk broskvävnad. Ett annat alternativ till varför vi inte kunde detektera strontiummärkningen i småålarnas fenor på samma sätt som i deras otoliter skulle kunna vara att strontiumet fördelas mer jämt i fenstrålarna jämfört med i otoliten. Om så är fallet skulle koncentrationen av strontium i fenstrålarna vara hög för samtliga individer som ingått i denna studie, jämfört med ål som inte märkts med strontium. För att undersöka detta skulle referensvärden för strontiumkoncentrationerna i omärkta ålars fenor behöva tas fram och sedan jämföras med koncentrationerna hos märkt ål, vilket kräver andra typer av analysmetoder som ger faktiska koncentrationer så

¹⁷ (Willmes et al. 2016)

¹⁸ (Allen et al. 2018)

¹⁹ (Snyder et al. 2022)

som laser (LA-ICP-MS) och fenprover från märkt och omärkt ål av samma storlek och ålder. Då endast småålar ingick i denna studie skulle det eventuellt också kunna vara lämpligare att analysera tvärsnitt av fenor från större och äldre ålar som blivit kemiskt märkta då deras fenstrålar eventuellt skulle kunna vara mer utvecklade och benlika. Det vore också önskvärt att undersöka om det går att detektera strontiummärkning i fenorna från färsk ål för att säkerställa att strontiummärkningen i fenorna inte bryts ned under lång tid i frys (10 år) alternativt att deras fenor påverkas av förvaringen i etanol (alla prover som ingick i denna studie hade antingen förvarats i frys eller etanol).

Prepareringen av ålens fenor via tvärsnitt av stjärt- och bröstfenor med såg var tidseffektivt och gick betydligt snabbare än att preparera otoliter. Dessutom tog tvärsnitten av fenorna mindre plats på täckglaset som de monteras på, vilket är önskvärt då det finns ett begränsat antal täckglas som kan analyseras samtidigt (tre stycken täckglas går att analysera samtidigt i fältemissionsmikrosonden vid Uppsala universitet). Ålarna som ingick i denna studie var små (längder mellan 8-17 cm) men det gick bra att preparera deras fenor. Detta är alltså en reproducerbar prepareringsmetodik som skulle kunna effektivisera arbetet med preparering av prover för att analysera om en ål är naturligt rekryterad till svenska vatten eller kommit till svenskt vatten via utsättningar. Eftersom strontium-märkningen inte kunde utläsas i de prover som ingick i denna studie så krävs dock mer arbete innan denna metod eventuellt kan tas i bruk för ål.

Ål märks inte enbart med strontium, både barium och Alizarin-rött har testats. Alizarin-rött är ett fluorescerande färgämne som binder till kalcium och olika karbonater, som har använts för märkning av fisk i mer än 30 år^{20,21}. Alizarin har använts för att märka ål i både liten och stor skala^{Fel! Bokmärket är inte definierat.,22}, och har detekterats i småålars fenor med hög detektionsframgång²³. Varför märkning med Alizarin går att detektera i småålars fenor men inte märkning med strontium skulle kunna bero på att Alizarin binder direkt till kalciumet som fenstrålarna innehåller medan strontiumet behöver lagras in i fenstrålarnas struktur när fenorna växer (vilket sker i otoliten via biomineralisering när en individ växer^{Fel! Bokmärket är inte definierat.,24}).

²⁰ (Tsukamoto et al. 1989)

²¹ (Beckman et al. 1996)

²² (Caraguel et al. 2015)

²³ (Gaillard et al. 2022)

²⁴ (Hüssy et al. 2021)

5 Slutsats

Det gick inte att detektera strontiummärkningen i stjärt- eller bröstfena från strontiummärkta ålar med fältemissionsmikrosond utrustad med BSE och WDS. Att preparera och såga tvärsnitt av ålens fenor var däremot en snabb och reproducerbar prepareringsmetod, och om strontiummärkningen hade kunnat detekteras hade metoden varit snabbare och mer effektiv jämfört med prepareringen av otoliter.

I studien ingick småålar som förvarats i frys sedan 2012 samt småålar som förvarats i etanol i ca 4 månader innan prepareringstillfället. Detta hade alltså ingen effekt på detekteringen av strontium i otoliterna, men skulle kunna ha haft en effekt på detekteringen i fenorna. För att ytterligare undersöka om strontiummärkning går att detektera i ålens fenor skulle därför fenor och otoliter från färska ålar (både märkta och omärkta) behöva prepareras och analyseras med förslagsvis laser (LA-ICP-MS), för att säkerställa att nedfrysning alternativt förvaring i etanol inte påverkar den kemiska sammansättningen av ålens fenor samt för att kunna jämföra faktiska koncentrationer i ålens fenor mellan märkta och omärkta individer. I tillägg behöver fenor från större ålar undersökas, eftersom all ål som ingick i denna studie var små-ål.

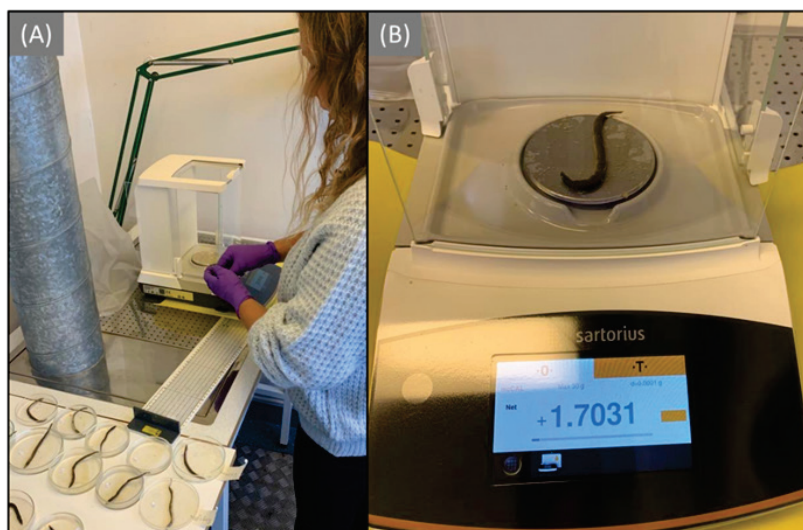
6 Referenslista

- Allen PJ, DeVries RJ, Fox DA *et al.* Trace element and strontium isotopic analysis of Gulf Sturgeon fin rays to assess habitat use. *Environmental Biology of Fishes* 2018;**101**:469–488. DOI: 10.1007/s10641-018-0713-7
- Avigliano E, Maichak de Carvalho B, Miller N *et al.* Fin spine chemistry as a non-lethal alternative to otoliths for stock discrimination in an endangered catfish. *Marine Ecology Progress Series* 2019;**614**:147-157. DOI: 10.3354/meps12895
- Beckman DW, Schulz RG. A simple method for marking fish otoliths with Alizarin compounds. *Transactions of the American Fisheries Society* 1996;**125**:146-149. DOI: 10.1577/1548-8659
- Campana SE. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series* 199;**188**:263-297. DOI: 10.3354/meps188263
- Caraguel JM, Charrier F, Mazel V *et al.* Mass marking of stocked European glass eels (*Anguilla anguilla*) with Alizarin red S. *Ecology of Freshwater Fish* 2015;**24**:435-442. DOI: 10.1111/eff.12158
- Clarke AD, Telmer KH, Shrimpton, MJ. Elemental analysis of otoliths, fin rays and scales: a comparison of bony structures to provide population and life-history information for the Arctic grayling (*Thymallus arcticus*). *Ecology of Freshwater Fish* 2007;**16**:354-361. DOI: 10.1111/j.1600-0633.2007.00232.x
- Finnäs V, Lill JO, Heimbrand Y *et al.* Prevalence of stocked whitefish in River Kemijoki, Finland, inferred by micro X-ray fluorescence analysis of otoliths. *Fisheries Management and Ecology* 2020;**27**: 490–497. DOI: 10.1111/fme.12430
- Gaillard M, Parlanti E, Sourzac M *et al.* New insights into detecting alizarin from autofluorescence in marked glass eels. *Scientific Reports* 2022;**12**:15985. DOI: 10.1038/s41598-022-18440-0
- Heimbrand Y, Limburg KE, Hüsey K *et al.* Seeking the true time: Exploring otolith chemistry as an age-determination tool. *Journal of Fish Biology* 2020;**97**:552–565. DOI: 10.1111/jfb.14422
- Hobbs JP, Frisch AJ, Mutz S *et al.* Evaluating the effectiveness of teeth and dorsal fin spines for non-lethal age estimation of a tropical reef fish, coral trout *Plectropomus leopardus*. *Journal of Fish Biology* 2014;**84**(2):328-338.
- Hüsey K, Krüger-Johnsen M, Thomsen TB *et al.* It's elemental, my dear Watson: validating seasonal patterns in otolith chemical chronologies. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 2021;**78**(5):551-566. DOI: 10.1139/cjfas-2020-0388
- ICES. Joint EIFAAC/ICES/GFCM Working Group on Eels (WGEEL). *ICES Scientific Reports* 2021;**23**:85. DOI: 10.17895/ices.pub.8143
- Jordbruksverket. Förvaltningsplan för ål. 2008;**Jo2008/3901**.

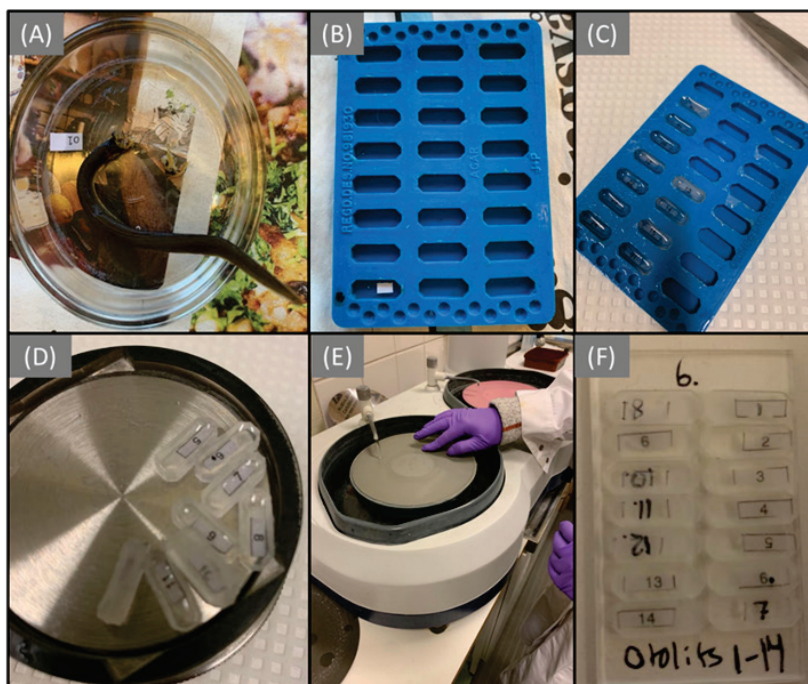
- Limburg KE, Olson C, Walther Y *et al.* Tracking Baltic hypoxia and cod migration over millennia with natural tags. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2011;**108**(22):E177-E182. DOI: 10.1073/pnas.110068410
- Murie DJ, Parkyn DC, Koenig CC *et al.* Evaluation of finrays as a non-lethal ageing method for protected goliath grouper *Epinephelus itajara*. *Endangered Species Research* 2009;**7**:213-220. DOI: 10.3354/esr00146
- Rude NP, Smith KT, Whitley GW. Identification of stocked muskellunge and potential for distinguishing hatchery-origin and wild fish using pelvic fin ray microchemistry. *Fisheries Management and Ecology* 2014;**21**:312-321. DOI: 10.1111/fme.12081
- Snyder CE, Oliver DC, Knights BC *et al.* Assessment of native fish passage through Brandon Road lock and dam, Des Plaines River, Illinois, using fin ray microchemistry. *Transactions of the American Fisheries Society* 2022;**151**:172-184. DOI: 10.1002/tafs.10345
- Tsukamoto K, Kuwada H, Hirokawa J. Size-dependent mortality of red sea bream, *Pagrus major*, juveniles released with fluorescent otolith-tags in News Bay, Japan. *Journal of Fish Biology* 1989;**35**:59-69. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1989.tb03046.x
- Tzadik OE, Curtis JS, Granneman JE *et al.* Chemical archives in fishes beyond otoliths: A review on the use of other body parts as chronological recorders of microchemical constituents for expanding interpretations of environmental, ecological, and life-history changes. *Limnology and Oceanography: Methods* 2017;**15**(3):238-263. DOI: 10.1002/lom3.10153
- Wasko AP, Martins C, Oliveira C *et al.* Non-destructive genetic sampling in fish. An improved method for DNA extraction from fish fins and scales. *Hereditas*, 2003;**138**:161-165. DOI: 10.1034/j.1601-5223.2003.01503.x
- Wennerström L, Laikre L, Ryman N *et al.* Genetic biodiversity in the Baltic Sea: species-specific patterns challenge management. *Biodiversity and Conservation* 2013;**22**:3045–3065. DOI: 10.1007/s10531-013-0570-9
- Wickström H, Sjöberg NB. Traceability of stocked eels—the Swedish approach. *Ecology of Freshwater Fish* 2015;**23**(1):33-39. DOI: 10.1111/eff.12053
- Willmes M, Glessner JG, Scott A *et al.* ⁸⁷Sr/⁸⁶Sr isotope ratio analysis by laser ablation MC-ICP-MS in scales, spines, and fin rays as a nonlethal alternative to otoliths for reconstructing fish life history. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 2016;**73**(12):1852-1860. DOI: 10.1139/cjfas-2016-0103

Bilaga A: Bilder på preparering av otoliter och fenor från småålar

Bilder på prepareringen av otoliter och fenor från de kemiskt märkta småålarna som ingick i pilotstudien. Preparering utfördes i laboratorium vid Sötvattens- och Kustlaboratoriet, tillhörande institutionen för akvatiska resurser, Sveriges lantbruksuniversitet (SLU Aqua).

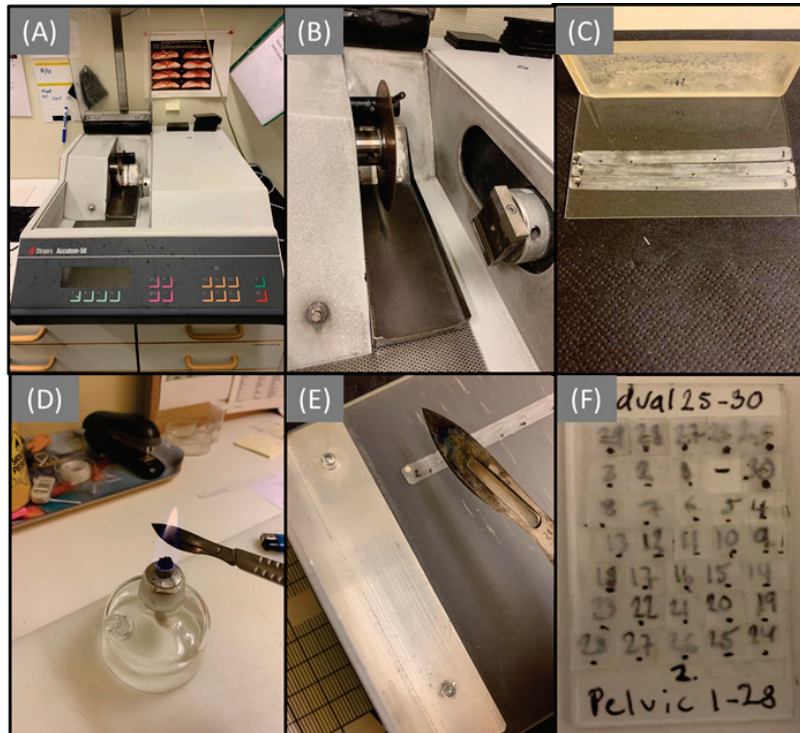


Figur A 1. Bilder som visar (A) mätning och vägning av de småålar som ingick i pilotstudien och (B) vägning av individ nummer 14.



Figur A 2. Bilder på preparering av ålotoliter där (A) visar dissektionen av en ål för att plocka ut dess otoliter, (B) visar ingjutningsformen i silikon i vilken en otolit per ål tillsammans med en lapp med ett unika ID-nummer placerades i varje brunn, (C) visar hur ingjutningen med epoxy går till med hjälp utav ingjutningsformen, (D) visar

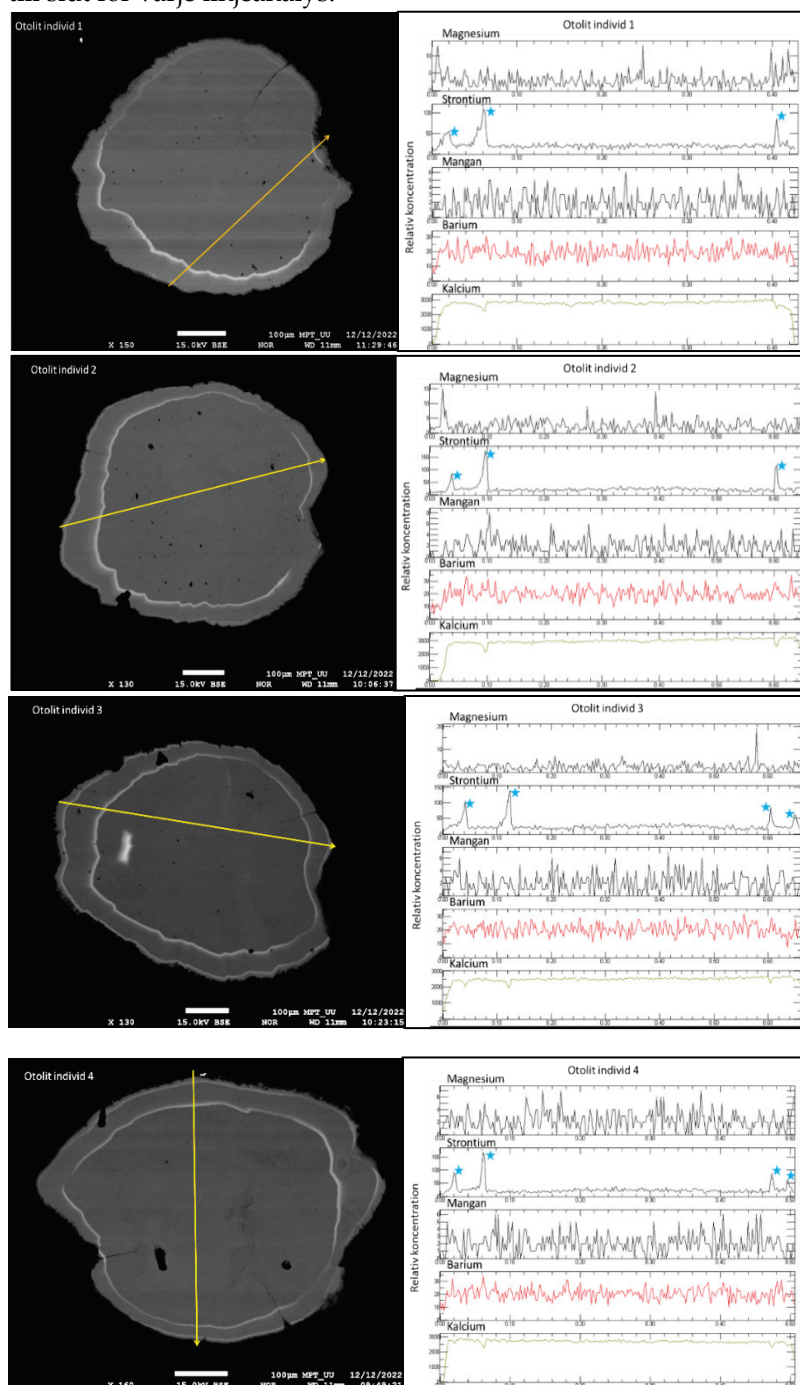
hårdade men oslipade epoxyingjutna otoliter, **(E)** visar hur en otolit våtslipas ned till sin kärna med en speciell slipmaskin och **(F)** visar hur de slipade och polerade otoliterna monterades med dubbelhäftande tejp på ett täckglas.

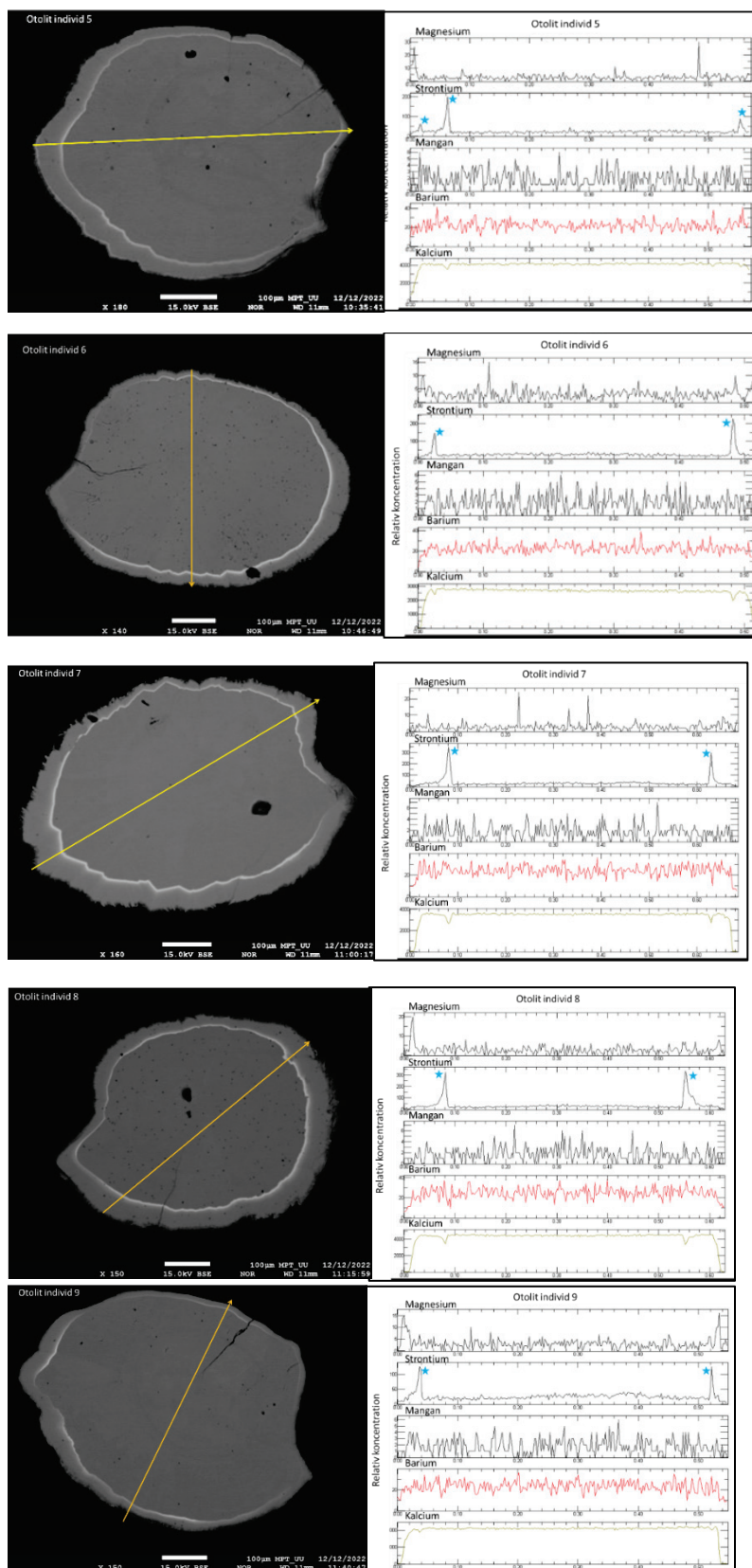


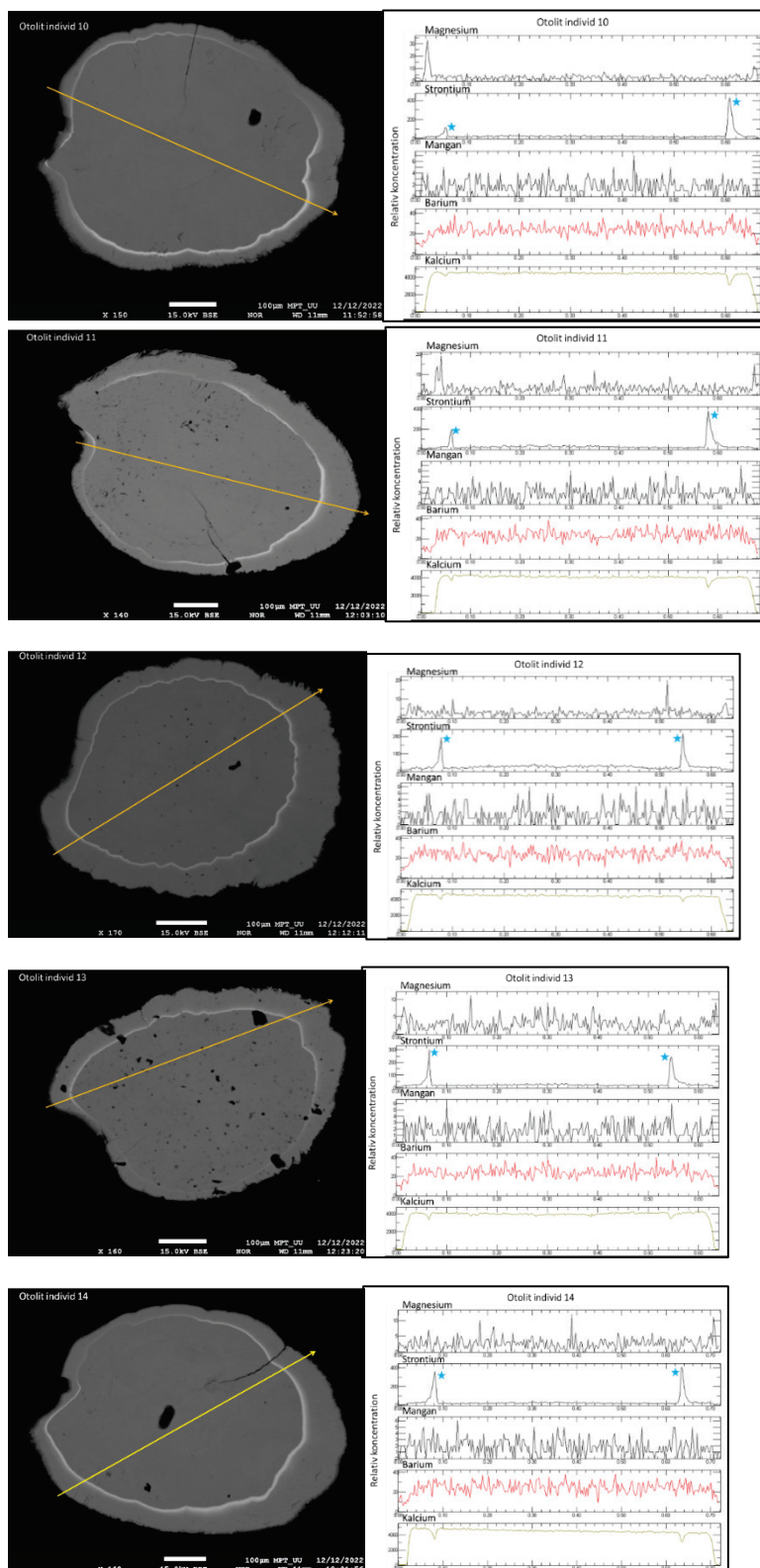
Figur A 3. Bilder på preparering av fenor från småål där **(A)** och **(B)** visar den såg som användes för att såga tunna tvärsnitt (Accutom-50), **(C)** visar hur tre sågade rader med tvärsnitt ser ut och epoxyblocket som monteras i sågen, **(D)** och **(E)** visar hur enskilda tvärsnitt skars ut från raden med tvärsnitt med hjälp utav en uppvärmd skalpell och **(F)** visar hur tvärsnitten monterades med dubbelhäftande tejp på ett täckglas. Märkning skrevs på baksidan av täckglaset med markeringspenna för respektive tvärsnitt.

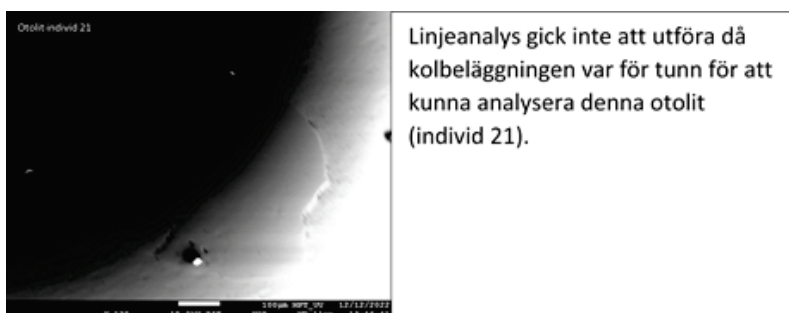
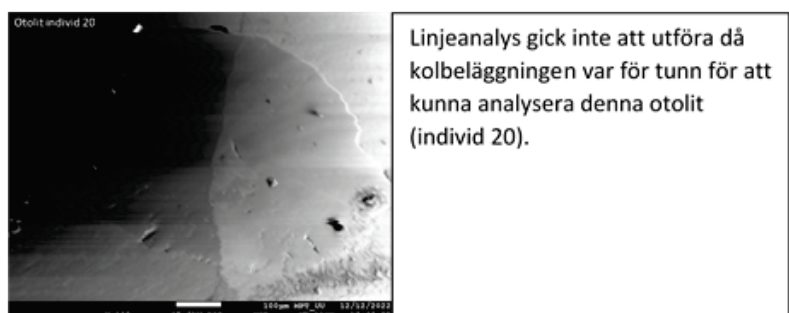
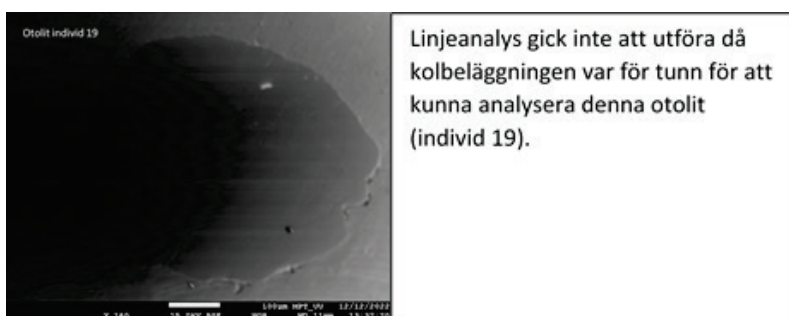
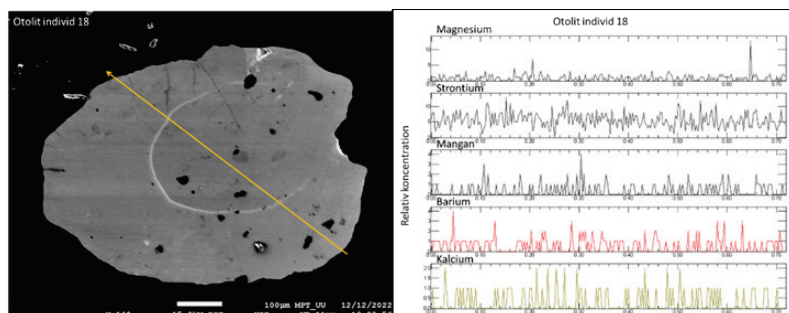
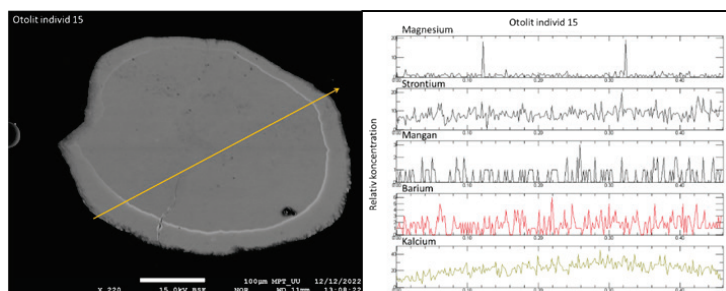
Bilaga B: Resultat från BSE och linjeanalyser av otoliter och fenprov

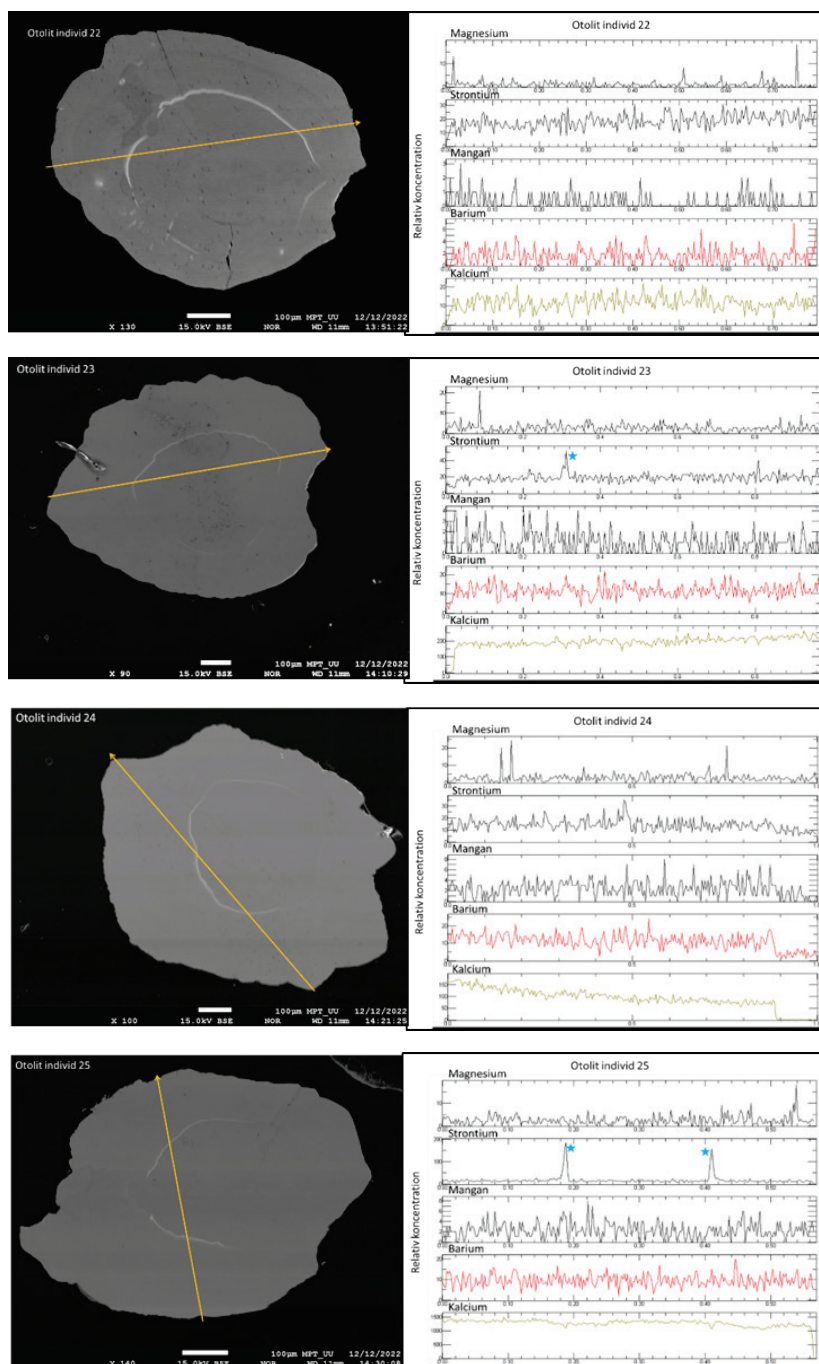
Bild (BSE) på varje analyserad otolit (individ 1-30, för individ 16 togs ingen bild och för individ 17 analyserades ingen otolit) där pilen visar start och stop för linjeanalysen samt resultaten från linjeanalysen där blåa stjärnor indikerar topparna i strontium från den kemiska märkningen. X-axeln är avståndet från start till slut för varje linjeanalys.

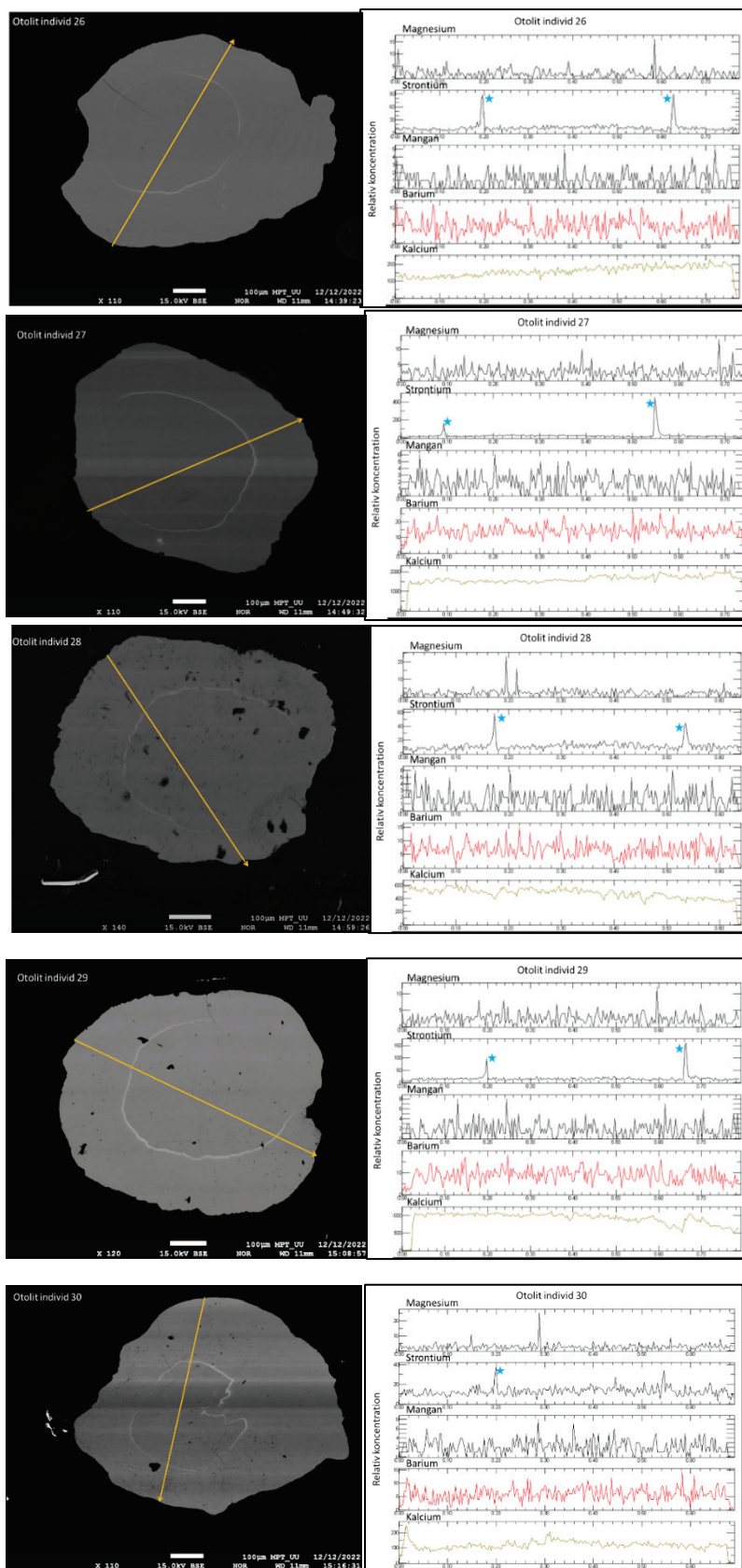




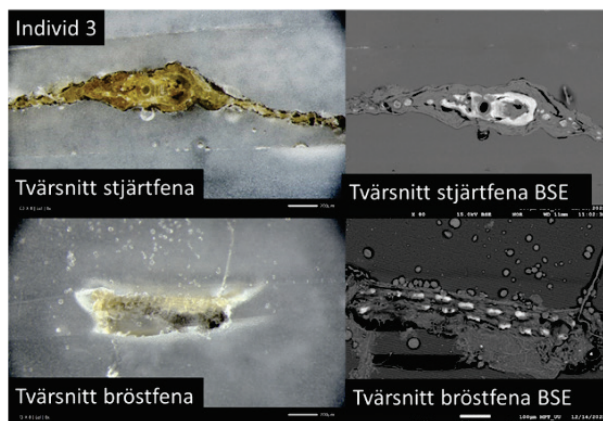
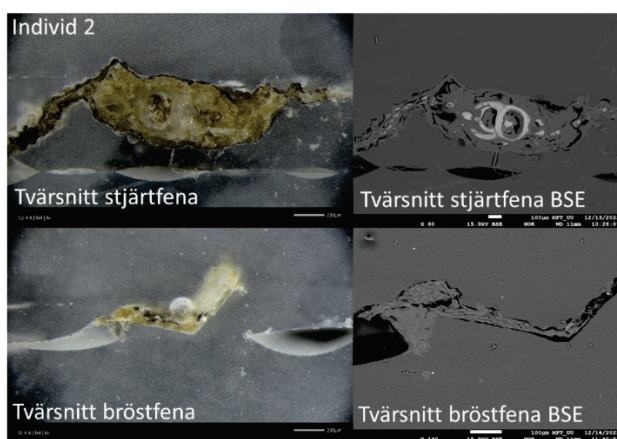
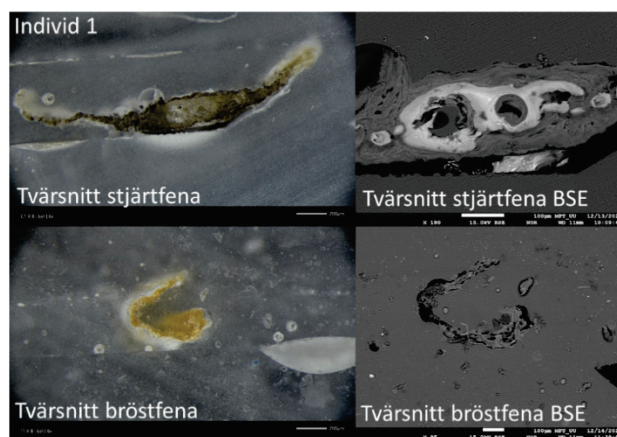


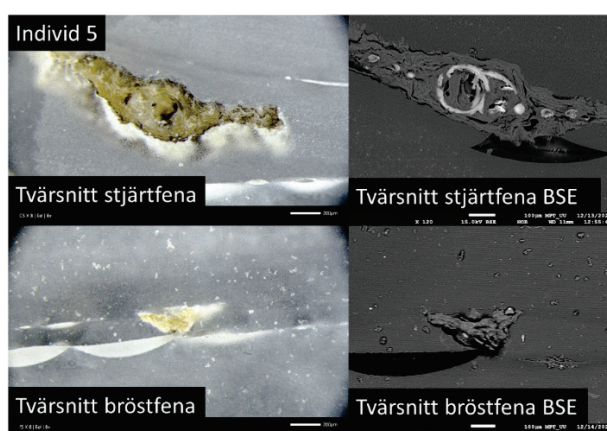
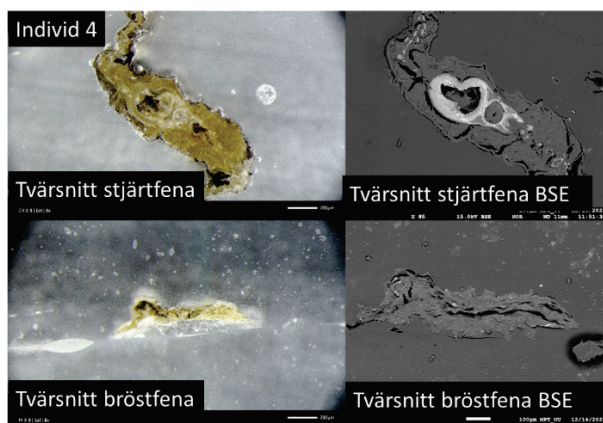


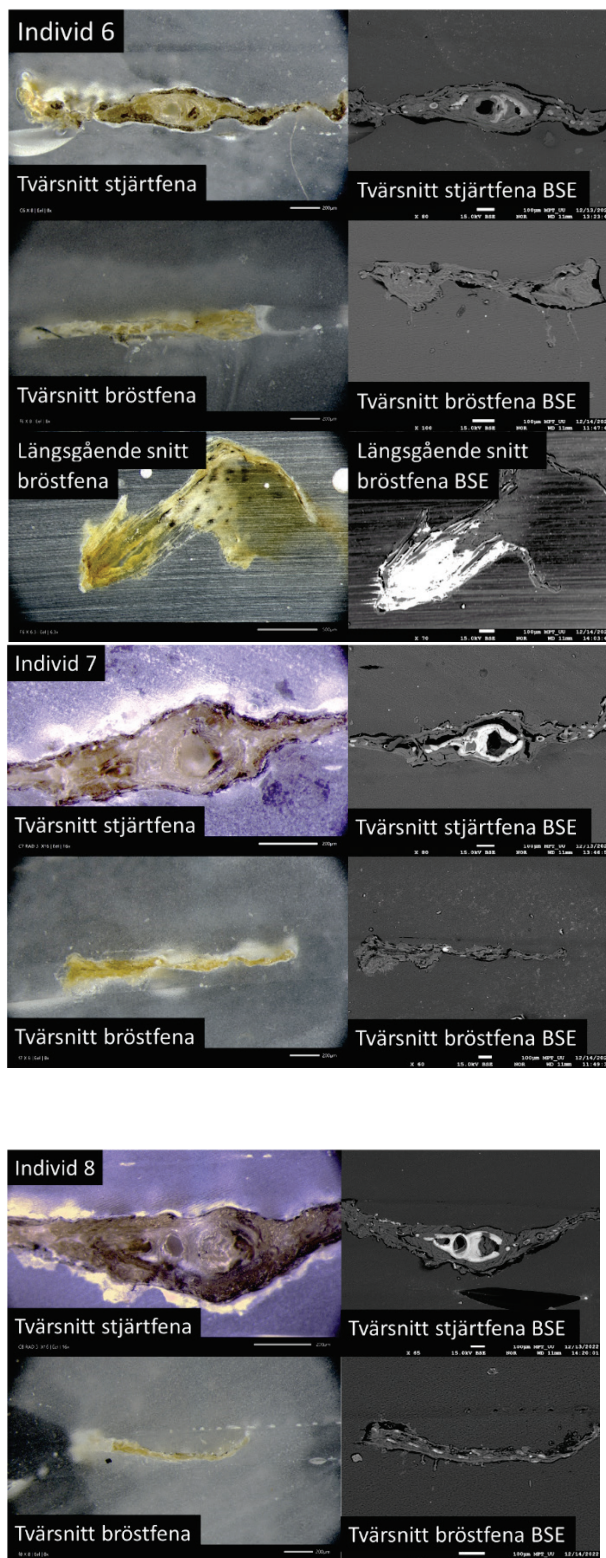


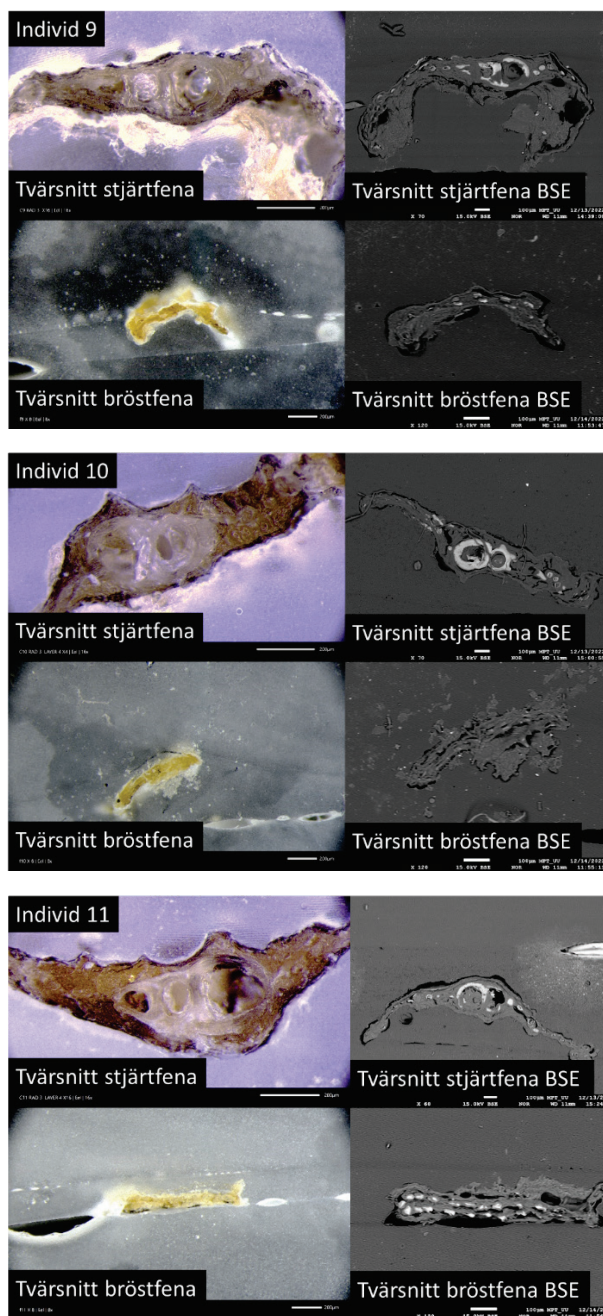


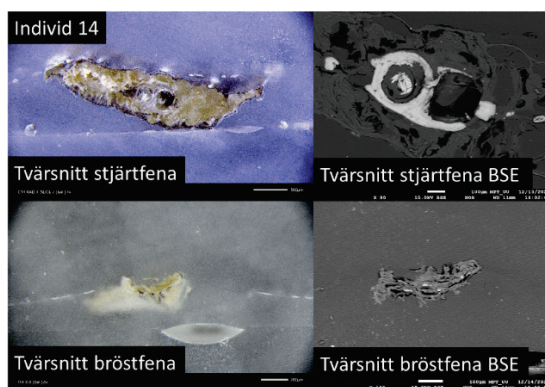
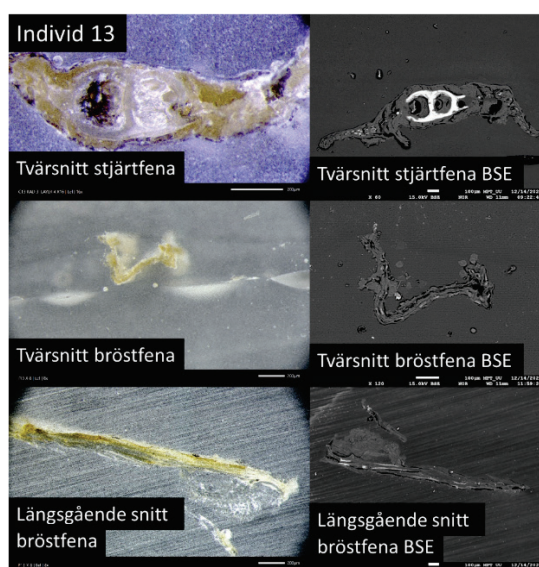
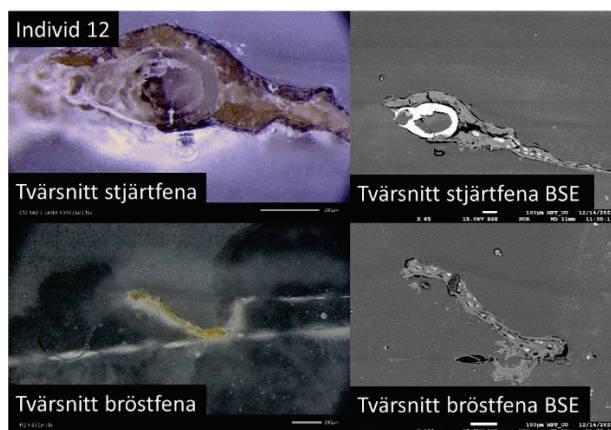
Bilder på tvärsnitt av stjärt- och bröstfena från de strontiummärkta småålarna som ingick i pilot studien tagna med mikroskop och med en fältemissionsmikrosond utrustad med reflekterande elektrondetektorer (BSE).

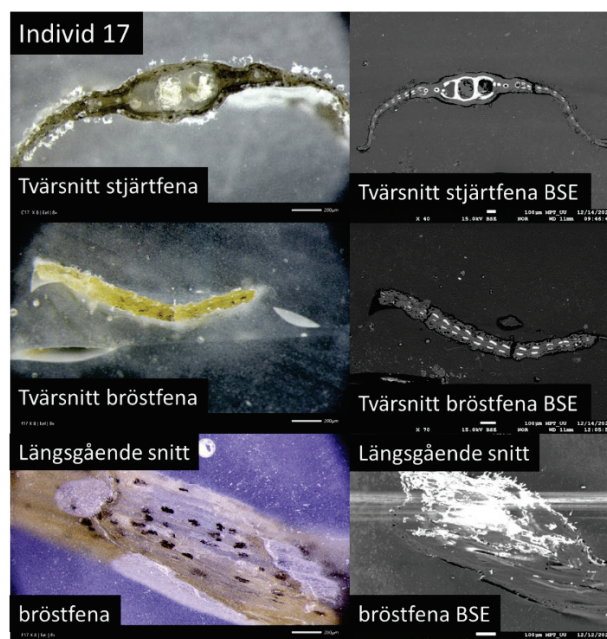
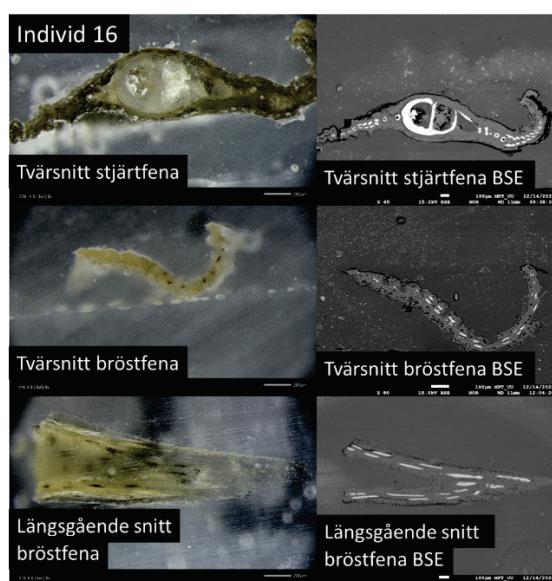
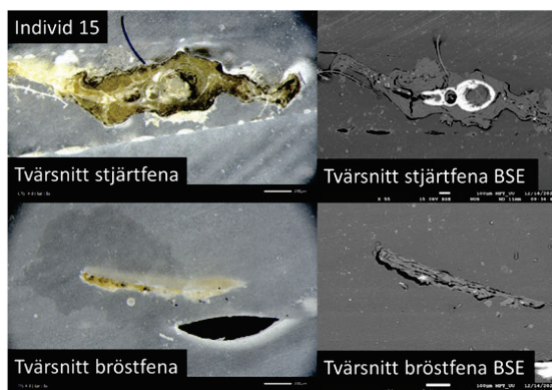


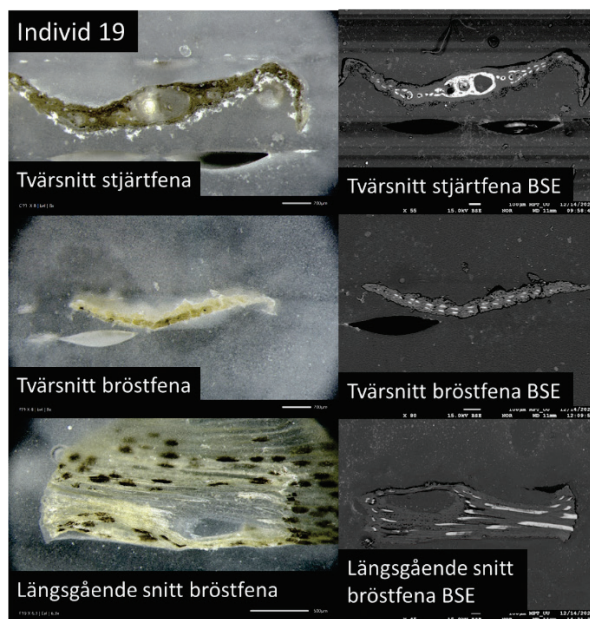
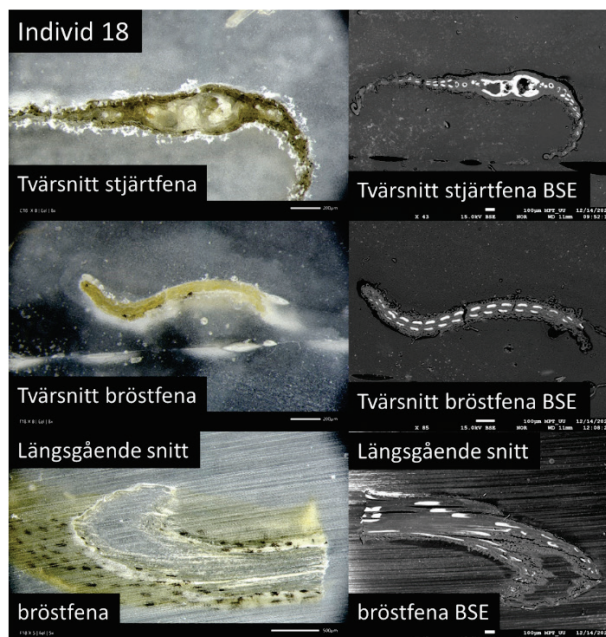


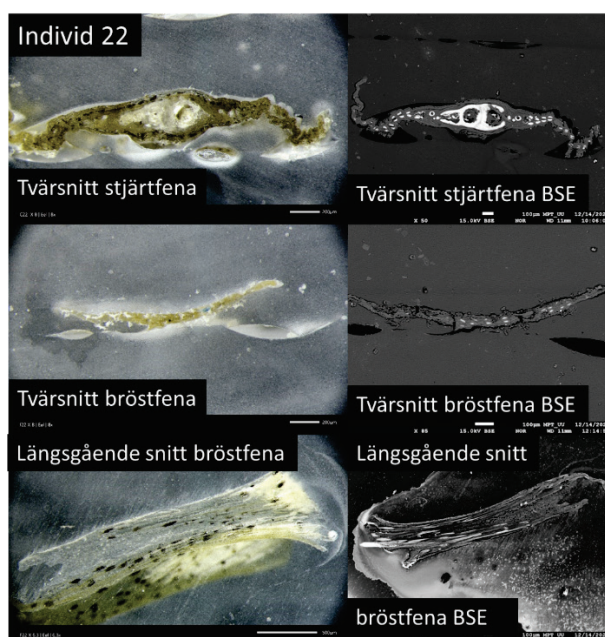
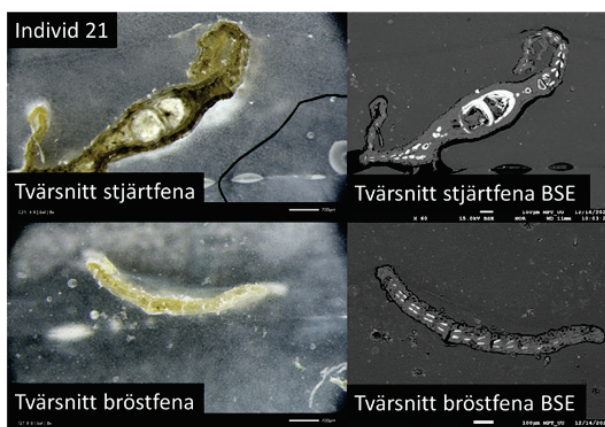
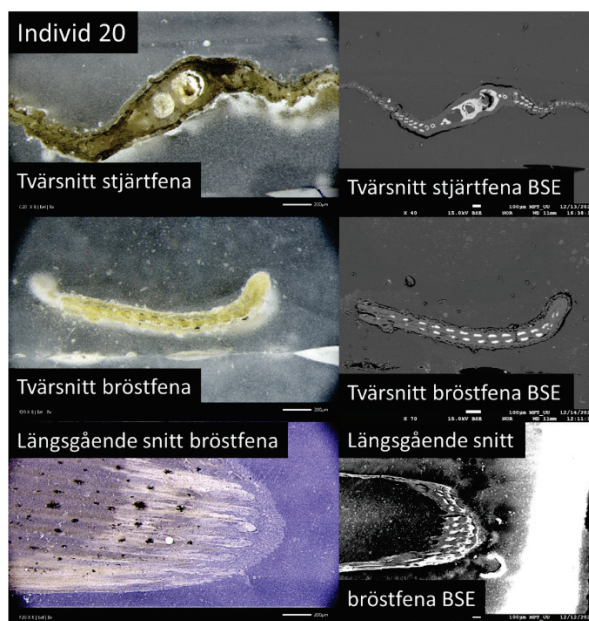


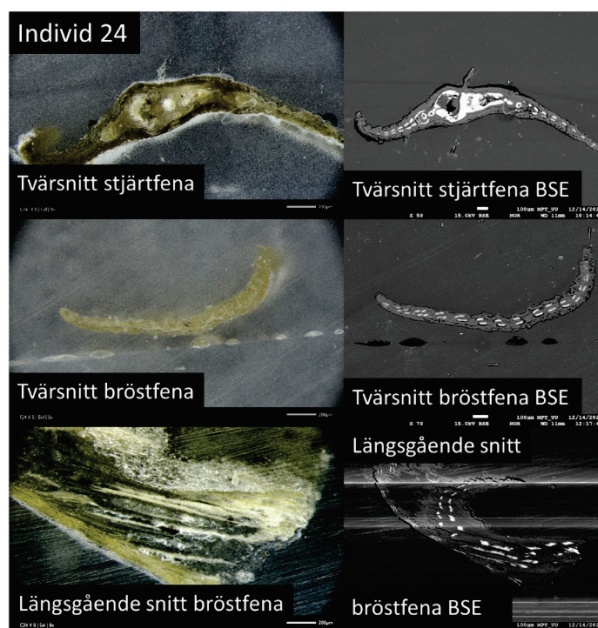
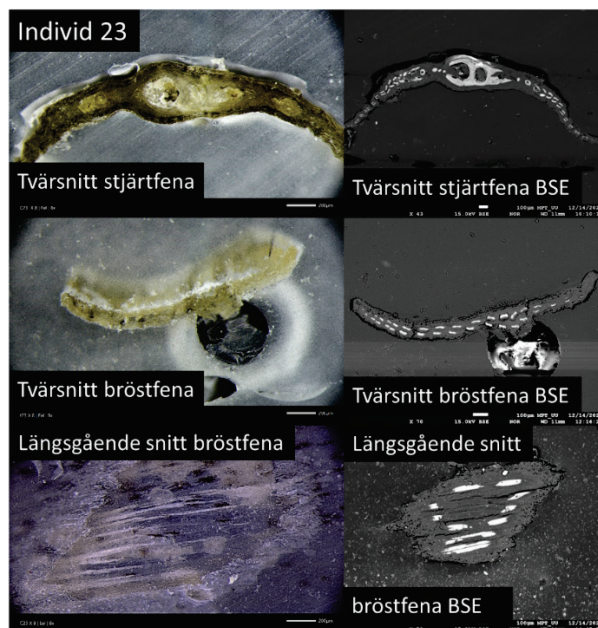


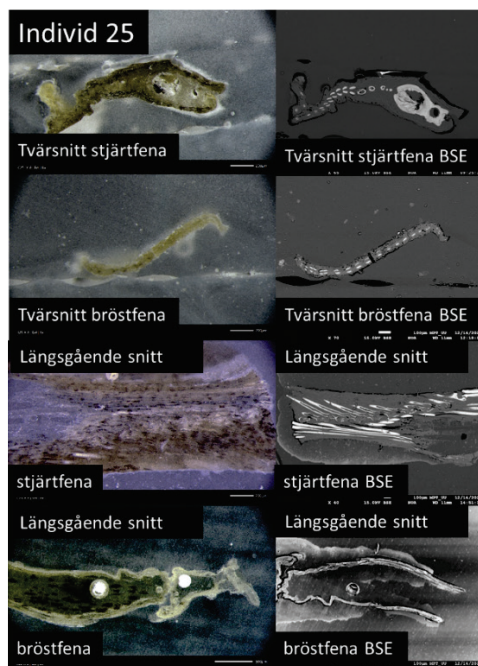


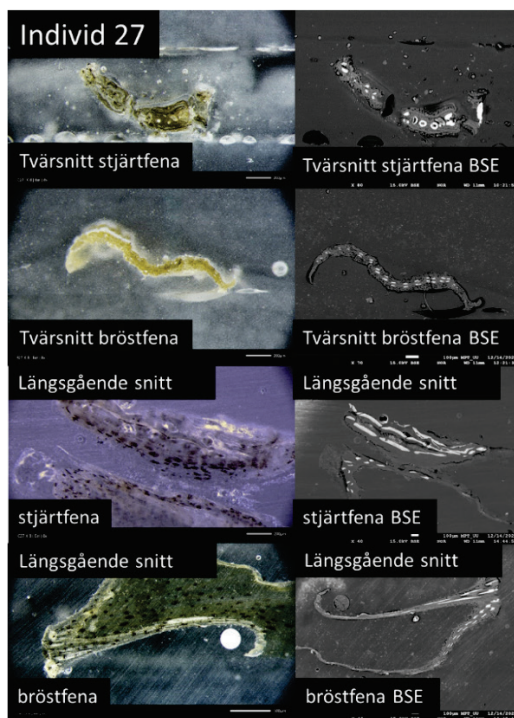


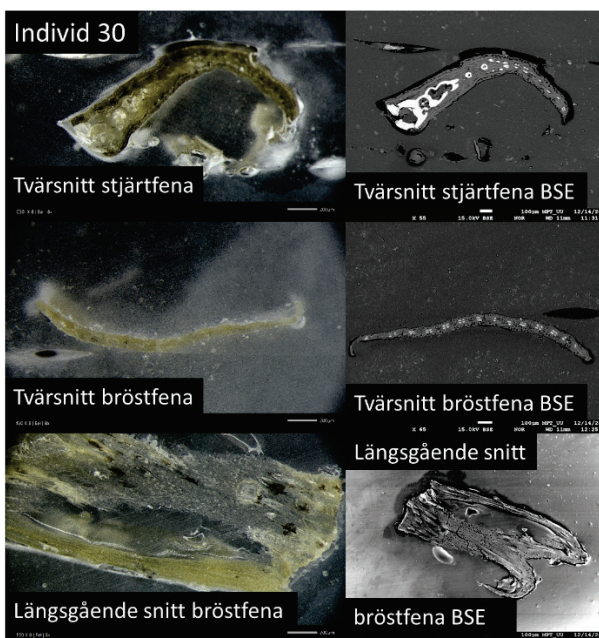












EN FENA PÅ ATT BESTÄMMA ÅLENS URSPRUNG

Det här pilotprojektet har utvärderat möjligheterna att ersätta otoliter med fenprov för att detektera den strontiummärkning som samtliga ålar som satts ut i Sverige bär på sedan 2009. För att samla in otoliter behöver ålen avlivas vilket inte krävs för att ta fenprov, vilket skulle kunna minska mängden ål som behöver avlivas i forsknings- och miljöövervakningssyfte.

Otoliter och fenor från 30 strontiummärkta småålar preparerades i laboratorium och dess kemiska sammansättning analyserades med en fältemissionsmikrosond samt med mikroröntgenfluorescens (microXRF). Strontiummärkningen detekterades för samtliga individer med deras otoliter, men kunde inte detekteras för någon individ med deras fenor. Ytterligare analyser där den faktiska strontiumkoncentrationen i fenorna från märkt och omärkt ål analyseras och jämförs skulle behövas för att säkerställa att fenor inte kan ersätta otoliter för att detektera strontiummärkningen hos ål.

Ett nytt steg i energiforskningen

Energiforsk är en forsknings- och kunskapsorganisation som samlar stora delar av svensk forskning och utveckling om energi. Målet är att öka effektivitet och nyttiggörande av resultat inför framtida utmaningar inom energiområdet. Vi verkar inom ett antal forskningsområden, och tar fram kunskap om resurseffektiv energi i ett helhetsperspektiv – från källan, via omvandling och överföring till användning av energin. www.energiforsk.se