

# FISKEN I FJELLET I FORTID OG NÅTID. HVA KAN DNA-ANALYSER FORTELLE?

*Jan Heggenes, Høgskolen i Sørøst-Norge*

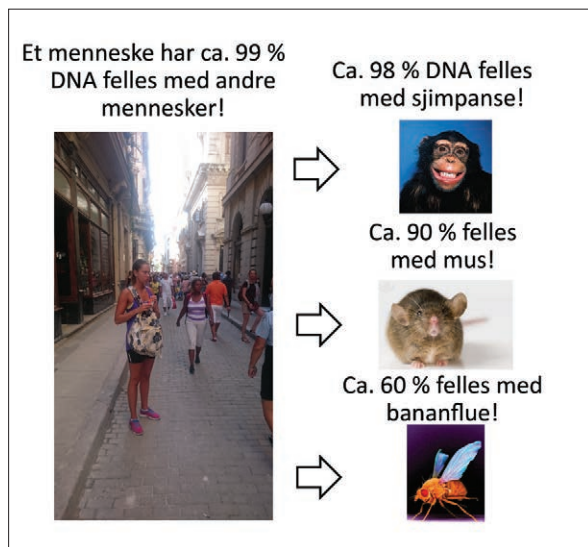
## INNLEDNING

Forskning på «arvestoff» begynte i 1860-årene, men DNA (*DeoxyriboNucleic Acid*) ble først oppdaget for vel 60 år siden.<sup>1</sup> Deretter har analysemetoder og kunnskap om DNA akselerert, særlig de siste tiårene, og det kulminerte i manges øyne med den fullstendige kartleggingen av menneskets DNA i år 2000.<sup>2</sup> Enklere, mer automatiserte, billigere og mer presise analysemetoder gjør at vi stadig anvender og henter mer kunnskap fra DNA om ulike organismer og deres utvikling, både i fortid og i nåtid.<sup>3</sup> Kan DNA også fortelle oss noe om fisken i fjellet – hvor den kom fra, når den kom, og hvordan? Ja, men da må vi først kjenne litt til det i noen henseender særegne genetiske «univers», forstå noen grunnleggende begreper i økologisk genetik og vite litt om genetiske markører. Så kan vi nøste opp kunnskap om hvor fisken i det sørnorske fjellet opprinnelig kom fra (fylogeografiske studier), og sannsynligvis også hvor og hvordan den kom seg til fjells i vår nære fortid og i vår egen tid (populasjonsstudier). Det er også interessant å se på i hvilken grad vi kan bruke DNA-analyser til å spore mer moderne menneskelige inngrep, for eksempel utsettinger og vassdragsreguleringer.

## DET SÆREGNE GENETISKE UNIVERSET

Det genetiske «univers» kan være noe litt for seg selv. Vi mennesker tenker gjerne rom og tid slik vi opplever dette i våre umiddelbare omgivelser. Slik er ikke tid og avstand i genetikken. Likhet i utseende og økologisk funksjon, det vil si samspill med andre organismer og miljø i sanntid, gjenspeiles ikke nødvendigvis så direkte i genetisk likhet og mengde. Tilsynelatende store forskjeller mellom mennesker i ulike deler av verden skriver seg bare fra mindre enn 1 prosent genetiske ulikheter, mens vi har mer enn 99 prosent av vårt DNA felles, det vil si det å være «menneske» (fig. 1).<sup>4</sup> Og av dette er kanskje 97 prosent det som vi inntil videre kaller «ikke-kodende DNA», det vil si at vi egentlig ikke vet om eller hva det brukes til. Slike tall kan variere litt i litteraturen, blant annet avhengig av hva slags genetiske markører som er brukt, hva slags genetiske avstander som er beregnet, og hvordan, men størrelsesordenen er den samme. Vi skal senere utdype disse begrepene. Og selv om det er en betydelig funksjonell forskjell mellom en sjimpanse som skreller og spiser en banan, og et menneske som spiller Chopin på klaver, har de 98 prosent av sitt DNA felles. Dette forklares ved at det meste av vårt

DNA brukes til å kode for grunnleggende former og prosesser ved det å være en levende organisme. Derfor har mennesket også ca. 90 prosent av sitt DNA til felles med mus og 60 prosent til felles med en bananflue (fig. 1). Rart, kan hende, men tenker vi oss om, så har for eksempel de store forskjeller i arkitektoniske bygningsuttrykk også det meste grunnleggende felles; de består som regel av gulv, vegger og tak. Det er heller ikke slik at mengde DNA nødvendigvis er et uttrykk for hvor avansert en organisme er. Laks kan ha dobbelt så mange gener som mennesket og salamander kanskje fem ganger så mange.<sup>5</sup> Vi må derfor forsøke å legge vår mer intuitive forståelse av tid, avstand og likhet litt til side når vi studerer genetikk.



**Figur 1:** Det genetiske univers kan være en virkelighet litt for seg selv. Det kan tilsynelatende være liten intuitiv sammenheng mellom hvor like eller ulike to organismer er, hvilken økologisk funksjon de har, og hvor mye DNA de har felles.

### ØKOLOGISK GENETIKK

I økologisk genetikk undersøker vi betydningen av arv i forhold til miljø for variasjonen mellom

individene i forskjellige bestander (= populasjoner). I våre fjell er ørret (*Salmo trutta*) langt den vanligste og mest utbredte fisken. Det er også en svært variabel og mye studert art med hensyn til både arv og miljø.<sup>6</sup> Endring i forekomst av karaktertrekk over tid er knyttet til to forhold: økologiske faktorer og naturlig seleksjon. Naturlig seleksjon bestemmer *genotypen*, det vil si det fulle sett av gener eller arv. *Fenotypen* er slik fisken faktisk er og ser ut, det fulle sett av morfologiske, fysiologiske, biokjemiske og atferdsmessige trekk. Fenotypen er summen av arv og miljø. Hvordan kan vi så skille genetiske fra miljømessige effekter, og i hvilken grad er fenotypen uttrykk for genotypen? Som vi så over, kan det være til dels liten sammenheng mellom genetiske og ytre morfologiske forskjeller. Det er velkjent at det kan være mye variasjon i ytre kjennetegn hos ørret, for eksempel i farge og prikker, og i atferd, for eksempel i hvorvidt de er stasjonære eller vandrende. Ørret er en fenotypisk sett *plastisk* art (fig. 2),<sup>7</sup> og siden 1758 er det derfor beskrevet ca. 50 «arter» av ørret.<sup>8</sup> Et grunnleggende viktig økologisk spørsmål blir derfor: Skyldes denne variasjonen arv eller miljø eller kanskje begge deler? Svaret er ofte at forskjellene skyldes miljømessige påvirkninger mer enn arv. Men selve denne evnen til fenotypisk plastisitet som ørreten har, er i seg selv ofte en genetisk regulert evne.<sup>9</sup> Vi mennesker er jo også i så måte en tilpasningsdyktig art.

I økologisk genetikk prøver vi å få mønster i dette puslespillet mellom arv og miljø. Vi leter etter mønster i arters, populasjoners og individers struktur og fordeling i tid og rom. Til det trenger vi genetiske (molekylære) markører som ikke påvirkes eller kompliseres av miljømessige faktorer, og som heller ikke påvirkes (for mye) av naturlig seleksjon, det vil si er stabile over generasjoner. Slike genetiske markører finner vi derfor fortrinnsvis i de deler av DNA-et som er nøytrale (for seleksjon), og



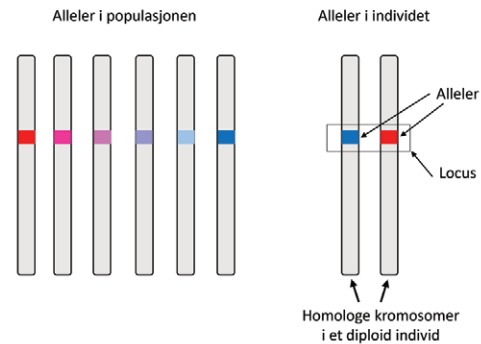
**Figur 2:** Ørret er en plastisk art med mye fenotypisk variasjon. Her er tre ulike typer ørret i Lough Melvin i Nord-Irland. Typene er også genetisk undersøkt.<sup>10</sup> Bilde hentet fra [www.flyfishing.co.uk](http://www.flyfishing.co.uk).<sup>11</sup>

med utgangspunkt i dem kan vi lete etter mønster og dermed etter populasjonsstruktur og historie (fylogeografi).<sup>12</sup> Forutsetningen er da at mutasjoner er eneste kilde til ny genetisk variasjon. Slike genetiske (molekylære) markører «måler» derfor antall mutasjoner over tid. Ulike markører i ulike deler av DNA-et egner seg til å estimere dette med ulik tidsoppløsning, fra mutasjoner som kan måles over én eller noen få generasjoner, til markører som måler så lange tidsrom som hundretusener av år.<sup>13</sup>

### GENETISKE MARKØRER

Genetiske (molekylære) markører er (svært) små biter av DNA på en bestemt plass på DNA-tråden (= *locus*). De har mange alternative varianter, alleler, og er lette å identifisere (fig. 3). Markører som ikke eller bare i liten grad påvirkes av seleksjon, er mest brukt for å undersøke populasjoner i nåtid og nær fortid fordi de viser mer variasjon enn selekterte markører. Andre typer genetiske markører brukes for å undersøke historiske prosesser (nedenfor).

Vi antar at disse bitene er representative for nedrivningen av DNA. I 1988 revolusjonerte oppdagelsen

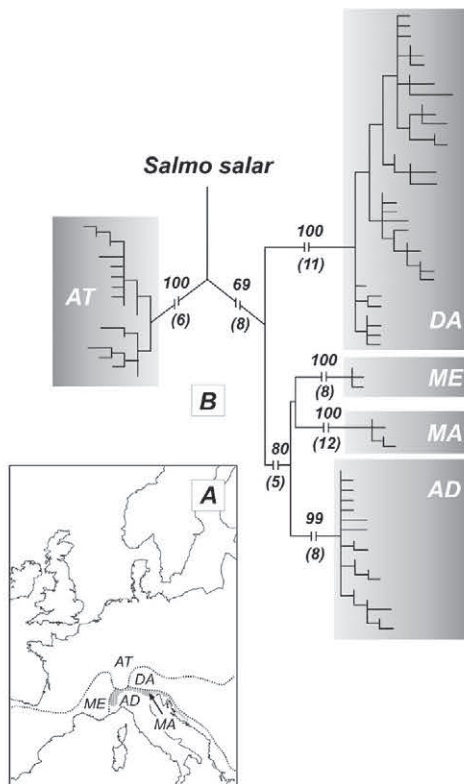


**Figur 3:** Genetiske markører er små biter av DNA på en bestemt plass på DNA-tråden (*locus*), og «gode» markører har mange alternative varianter (alleler) i populasjonen. Ved kjønnnet forering får et individ ett kromosom (DNA-tråd) med ett allel fra mor og ett fra far (homologe kromosomer, alleler).

av PCR (*Polymerase Chain Reaction*) genetiske analyser ved at det ble lett å «oppformere» utvalgte biter av DNA for videre analyser.<sup>14</sup> Etter dette har et forvirrende stort antall av ulike typer genetiske markører blitt brukt i genetiske studier.<sup>15</sup> I vår sammenheng med ørret og fjellfiske trenger vi å kjenne til to typer, men disse er også de vanligst brukte: mitokondrielt DNA (mtDNA), som er molekylære markører for de lange tidsrom (fylogeografiske studier, tusener av år), og mikrosatellitt-DNA, som er markører for nåtid og vår nære fortid (populasjonsstudier).

Mitokondrier er selvstendige strukturer inne i cellene, og de er cellenes energiproducenter. De har sitt eget lille DNA; for eksempel koder humant mtDNA for 13 gener, mye knyttet til energiomsætning. Mitokondrier nedarves kun via eggcellen, det vil si i rene morlinjer. Sædceller har også mitokondrier med DNA, men de ødelegges ved befruktningen. Derfor påvirkes mtDNA ikke av rekombinasjon, men bare av mutasjoner. Siden mutasjonsrater ofte er 1–2 prosent per million år, fungerer de som





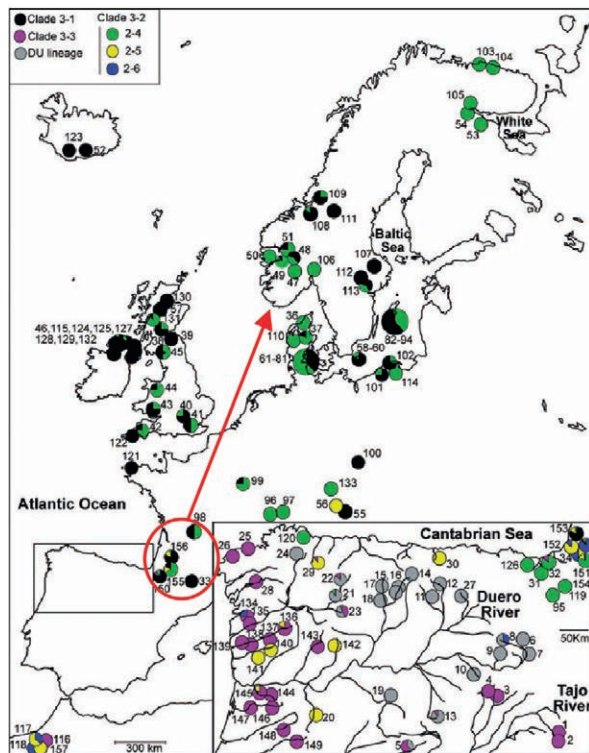
- Fem evolusjonære morlinjer:
  - AT = Atlantisk
  - DA = Danubisk
  - ME = Middelhavet
  - MA = Marmoratus
  - AD = Adriatisk
- Fra fragmentering under istidene 0.5–2 mill. år siden (særlig 0.7 mill. år siden)

**Figur 6:** Det er til nå indentifisert fem evolusjonære morlinjer (mtDNA-haplotyper) hos ørret: en atlantiske ørret (AT), som hører hjemme i elver og vann i Vest-Europa, en danubisk (DB) og en knyttet til Middelhavet (ME), som har to underlinjer, marmorørret (MA) og adriatisk ørret (AD). Morlinjene oppsto for 0,5 til 2 millioner år siden da ørretbestanden ble delt opp og isolert av isbarrierer. Bearbeidet etter Bernatchez mfl.<sup>20</sup>

danubisk (DB) og en knyttet til Middelhavet (ME), som har to særegne underlinjer, marmorørret (MA) og adriatisk ørret (AD). Disse linjene oppsto for 0,5 til 2 millioner år siden under de siste istidene, da ørretbestandene ble delt opp og isolert i forskjellige områder av isbarrierer.

Nærmere undersøkelser av den atlantiske morlinjen indikerer at «vår» ørret overlevde et tidligere istidsmaksimum for ca. 230–190 000 år siden i noen isfrie elver og områder i Sør-Frankrike. Deretter spredte ørreten seg nordover som sjøørret til Skandinavia etter hvert som isen smeltet, og den

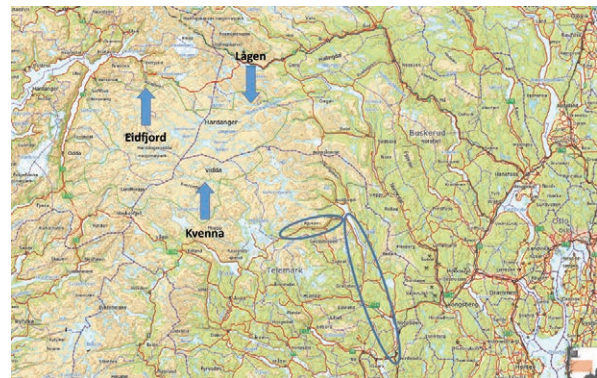
består i dag av begge de to genetiske undervarianter, eller *clades* (fig. 7), som også fantes i Sør-Frankrike. Dette er relativt krevende analyser, så det er ikke mer enn en håndfull norske bestander som er undersøkt genetisk på denne måten (Cortey mfl. 2009). Men en av de undersøkte bestandene som viser slikt slektskap, er fjellørret fra Bjornes på Hardangervidda.<sup>21</sup> Denne bærer i seg DNA som viser at vår fjellørret antagelig opprinnelig kommer fra elver i Sør-Frankrike for ca. 200 000 år siden.



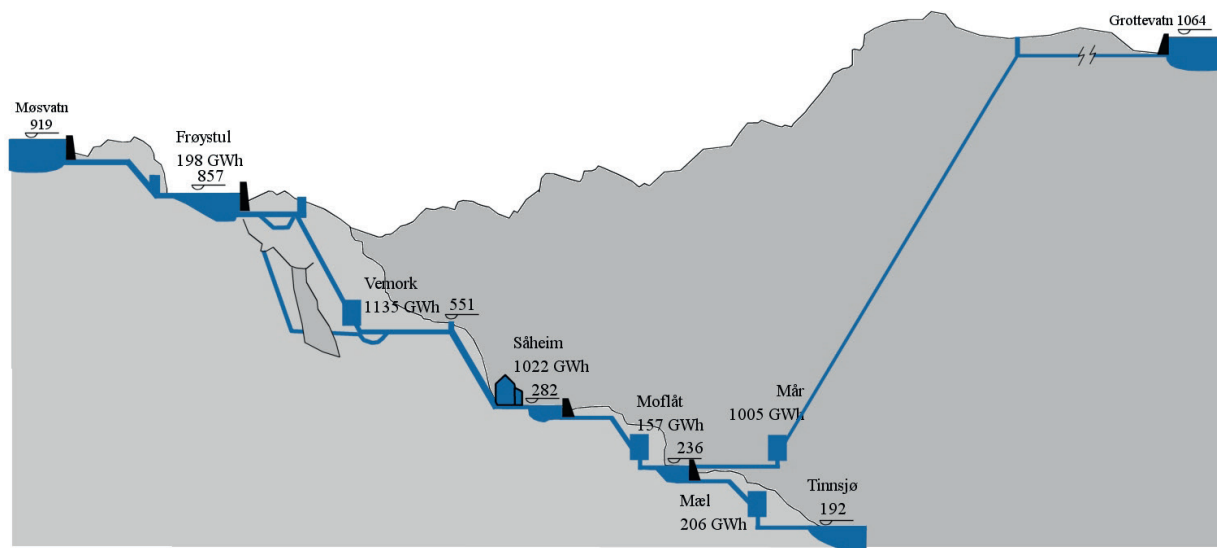
Figur 7: Ørret overlevde en stor istid for ca. 200 000 år siden i elver i Sør-Frankrike. Etter hvert som isen smeltet, koloniserte ørret områder nordover i Europa, og til slutt Skandinavia. Etter Cortey mfl.<sup>22</sup>

### NÅR OG HVORDAN KOM ØRRETEN OPP I FJELLET?

For undersøkelser av ørretens sannsynlige vandringsveier i vår nære fortid må vi støtte oss på populasjonsundersøkelser via mikrosatellitt-DNA. Det er ennå ikke gjort omfattende undersøkelser av dette på mange ørretbestander i fjellområdene i Norge, så her ligger det et stort forskningspotensial. Mest kunnskaper har vi om populasjonsgenetikken til ørreten på Hardangervidda, vårt klart største sammenhengende fjellområde i Sør-Norge, som har tre hovedvannområder: Lågen og Kvenna i øst og Eidfjord i vest (fig. 8).<sup>23</sup> Ørreten vandret inn i



Figur 8: Kart over Hardangervidda (øverst) med de tre hovedvannområdene Lågen og Kvenna i øst og Eidfjord i vest. Nedre del av Kvenna (i midten) var etter siste istid antagelig enkleste vannvei for ørret inn fra havet (innringet på kartet øverst). Hovedbassenget i Kvenna er Mjøsvatn (nederst).

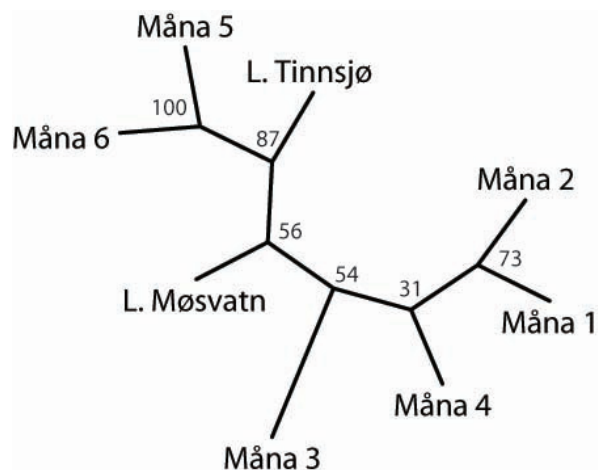


**Figur 9:** Skjematisk oversikt over Måna elv fra Møsvatn på Hardangervidda og ned til Tinnsjø, hvor ørret vandret inn naturlig. Rjukanfossen var det store vandringshinder. Omfattende reguleringer på 1900-tallet har nå påvirket vassdraget sterkt og vanskeliggjort naturlige vandringer. Stasjoner i Måna hvor ørreten er undersøkt genetisk («Måna-1–6») korresponderer med navn i figur 10.

Norge via vannveiene etter siste istid. Den kunne da naturlig komme tett opp mot Hardangervidda, særlig via den østlige gren av Telemarksvassdraget og via Lågen. Men i Lågen var det tidlig flere fosser, og på vestsiden av vidda går fjellet nesten rett i havet. Telemarksvassdraget med Tinnelva, Tinnsjø og Måna representerer den enkleste vannvei opp i fjellet (fig. 8).

Vi ser ut fra analyser av DNA at ørret trolig har vandret inn i Telemarksvassdraget ved egen hjelp, først til Tinnsjøen og opp i Måna elv helt til Rjukanfossen oppunder Hardangervidda (fig. 8, 9).<sup>24</sup> Ørreten i Tinnsjø har en variant av et spesielt gen (*LDH-C\*100*) som er en markør for fisk som vandret tidlig inn etter siste istid, antagelig ca. 8000–9000 år f.Kr. I alle fall regner vi med at hoveddelen av innlandsisen var avsmeltet før 8000 f.Kr.<sup>25</sup> Ved å sette opp et slektskapstre (fig. 10) ser vi at ørreten i Måna elv klart kommer fra

Tinnsjø, selv om de omfattende reguleringsinngrepene i Måna i nyere tid også har påvirket ørretens genetiske struktur gjennom bygging av dammer som fungerer som (delvise) vandringshinder (fig. 9, 10). Det er videre gjort mikrosatellittanalyser av DNA-et til ørreten i Møsvatn opppe på selve Hardangervidda-plataet (fig. 8, 10). Disse viser også nært slektskap med ørret i Måna, og den er opprinnelig den samme ørreten som i Tinnsjø (fig. 8, 10). Vi finner for eksempel flere stedegne genvarianter i Tinnsjø som vi også finner igjen i Møsvatn. Derimot er det ikke funnet egne genvarianter av ørret i Møsvatn som kunne skille den fra den i Tinnsjø. Dette vil være en konsekvens av at ørreten har blitt flyttet videre oppover i vassdraget.<sup>26</sup> Fra Møsvatn kan ørreten lett ha blitt spredt videre innover Hardangervidda, særlig langs hovedvassdraget Kvenna (fig. 8). Men hvordan kom ørreten seg opp på fjellet? Selv om det her var kortest



**Figur 10:** Genetisk slektskapstre for ørret i Tinnsjø, Måna og Møsvatn. Ørreten vandret naturlig inn i Tinnsjø og Måna, men ble så stoppet av Rjukanfossen. Likevel viser analysene at ørreten i Møsvatn kommer fra Måna/Tinnsjø. Ørreten må ha blitt båret opp av mennesker, sannsynligvis i tidlig steinalder. Navn i Måna korresponderer med stasjoner i Måna hvor ørreten er undersøkt genetisk (figur 9, «Måna-1–6»).

mulig vei geografisk sett, var den eneste barrieren, Rjukanfossen, umulig å passere naturlig. Ørreten må derfor ha blitt båret opp av mennesker, noe som var lett med de korte avstandene. Arkeologiske funn kan indikere at dette har skjedd i steinalderen. Vi vet fra arkeologisk materiale at steinaldermennesker var på villreinjakt på Hardangervidda allerede for 10 000 år siden,<sup>27</sup> og kanskje til og med før det. Det er også funnet ørretbein på slike boplasser. Å styrke næringsgrunnlaget ved å bære opp ørret til de mange tomme vann på Hardangervidda var nærliggende, særlig om høsten, når ørret var på gyting i elver og bekker og dermed lett å fange.

Selv om dette er best dokumentert for Telemarksvassdraget og Kvenna, kan det nok hende at ørreten også har kommet seg opp på Hardangervidda på

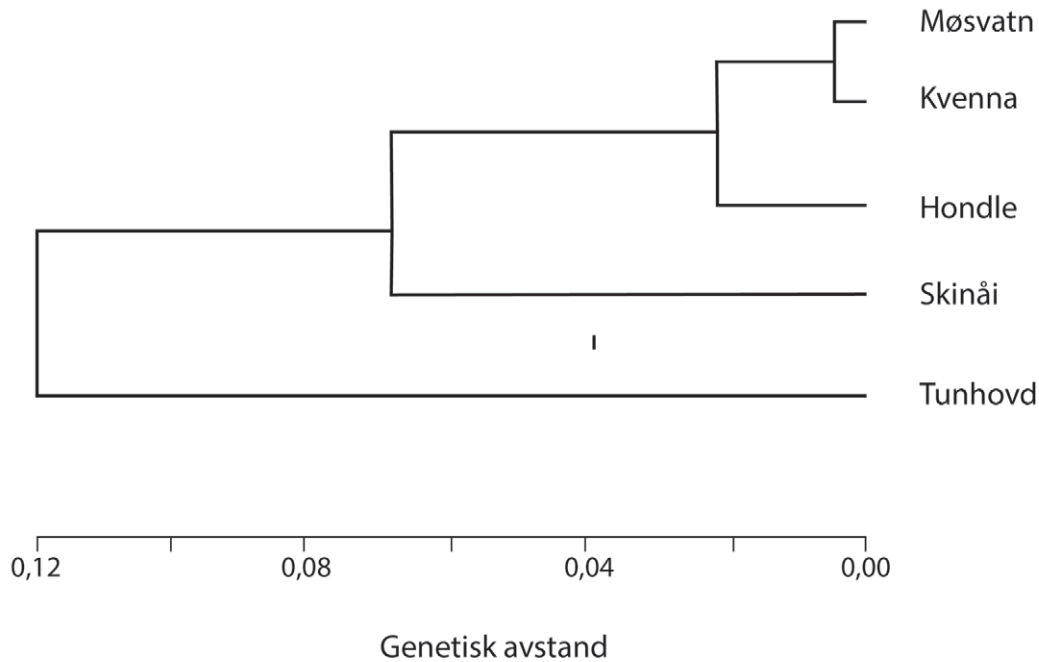
lignende vis via de andre hovedvannveiene, Lågen og Eidfjord, som hadde enda større naturlige hindringer i form av fossefall. Undersøkelser av mikrosatellitt-DNA tyder i hvert fall på at ørreten på Hardangervidda i hovedsak genetisk sett er forskjellig mellom disse tre hovedvannområdene (fig. 8).<sup>28</sup>

### HVA KAN DNA FORTELLE OSS OM UTSETTINGER AV ØRRET I FJELLET?

Vi ser at ved at vi legger sammen puslespillbiter, kan DNA vise oss hvor ørreten kom fra i et langt tidsperspektiv, og hvordan og hvorfra den kom seg opp i fjellet med menneskets hjelp. Her ligger en stort videre forskningspotensial i årene som kommer, blant annet fordi vi nå via bedre metoder kan ekstrahere DNA fra arkeologisk materiale, for eksempel fiskebein, og dermed rekonstruere innvandringsveier mer i detalj.

Vi kan også bruke DNA til å spore vår egen tids påvirkninger fra mennesket. Det er allment kjent at det har vært mange utsettinger og flytting av ørret i nyere tid. Historien til, og effekter av, slike utsettinger kan vi også spore ved hjelp av DNA-analyser. En viktig grunn til at disse undersøkelsene av mikrosatellitt-DNA-et til ørret er gjennomført, er at man ville undersøke om utsettinger, særlig utsettingspålegg i forbindelse med vassdragsreguleringer, har hatt noen virkninger. Dersom det er brukt ikke-stedegen fisk til utsettinger, noe som har vært vanlig praksis inntil nylig, vil disse ha en egen mikrosatellitt-DNA-signatur som er lett å skille fra den opprinnelige, stedegne ørreten. I Tinnsjø ble det for eksempel årlig i mer enn 30 år satt ut ca. 50 000 ørreter av stammen fra Tunhovd (og Slidre). Dette antall utsatt fisk er i omtrent samme størrelsesorden som total beregnet naturlig rekruttering. Likevel var det svært få genetiske spor å finne av denne utsatte ørreten, som rett og slett ikke syntes å bidra til gytingen til tross for store og langvarige





**Figur 11:** Genetisk slektskapstre og genetiske avstander for naturlig og utsatt ørret i Møsvatn. Tunhovd-ørret ble systematisk satt ut i Møsvatn i over 30 år (siden 1959), men synes ikke å ha påvirket de naturlige genetiske populasjonene vesentlig.

utsetninger.<sup>29</sup> Tilsvarende har det i Møsvatn blitt satt ut 3500 ensomrige og 700 tosomrige ørreter siden 1959, i all hovedsak Tunhovd-ørret, uten at dette har hatt vesentlig genetisk effekt.<sup>30</sup> Ørreten i Møsvatn er fremdeles i all hovedsak rekruttert naturlig via de tre elvene inn i Møsvatn, og ørreten har her hver sin genetiske signatur (fig. 11). Spredte og mindre systematiske utsetninger forstår vi da intuitivt kanskje ofte kan ha enda mindre genetisk effekt.<sup>31</sup> Men motsatt har også utsetninger på Hardangervidda stedvis ført til genetisk innblanding av «fremmed» ørret (introgresjon)<sup>32</sup> og har

også resultert i at ørretbestander enkelte steder på Hardangervidda har endret karakter helt.<sup>33</sup>

Det blir naturligvis fort et svært komplisert puslespill når det blir utsatt ulike typer ørret i ulike mengder og til ulike tider. Men vi finner så langt ikke noe entydig svar på om og i hvilken grad utsatt ørret etablerer seg og tilpasser seg, og om den blander seg med eventuelt tidligere utsatt eller naturlig ørret. Dette synes å være et svært sammensatt bilde, hvor svarene avhenger av de lokale forhold.<sup>34</sup> DNA kombinert med skriftlige og eventuelt muntlige kilder er her de redskapene vi kan bruke for å

rekonstruere utsetningshistorier, og DNA gir oss uansett dagens tilstand.

På lignende måte kan vi også bruke DNA til å spore mulige effekter av fragmentering og isolasjon gjennom for eksempel reguleringsinngrep og bygging av vandringsbarrierer som dammer i moderne tid. Dette var hovedmålet med undersøkelsene i Måna elv, hvor det er bygget dammer til ulike tider (1906–1957) nedover i elva (fig. 9).<sup>35</sup> Her viste det seg at de nyere dammene i den nedre delen av elva hadde hatt liten innvirkning på den genetiske strukturen. Derimot skilte ørret i den øvre delen av Måna, som ble først fragmentert og isolert i 1906, rett nedstrøms fra Møsvatn, seg fra resten av ørreten (fig. 9, 10). I løpet av ca. 100 år hadde derfor denne bestanden endret seg vesentlig genetisk sett. Dette skyldtes antagelig en liten gytebestand og dermed tilfeldige genetiske endringer, noe som kalles genetisk drift.

Utgangspunktet vårt var: Hva kan DNA-analyser fortelle oss om fisken i fjellet? Som vi har sett, kan DNA fortelle oss mye. Det er et relativt nytt og kraftfullt verktøy i vitenskapens tjeneste. Det vil bli stadig mer brukt i årene som kommer, særlig nå når teknikkene har blitt enklere og rimeligere, selv om det fremdeles er krevende analyser. Så langt vet vi på grunn av undersøkelser av mitokondrielt DNA at vår «norske» ørret kom fra elver i Sør-Frankrike for ca. 200 000 år siden. Vi kan spore innvandringsveier fra kysten og innover i landet ved å kombinere geografi, arkeologi, historie – og nå også Mikrosatellitt-DNA. Hver ørretbestand har sin egen DNA-signatur som vi kan analysere. Vi kan derfor også spore nyere tids påvirkninger, for eksempel i form av flyttinger og utsetninger, eller effekter av naturlige og kunstige barrierer og lignende inngrep. Vi vil i økende grad bruke DNA som grunnlag for forvaltningsstrategier og som responsvariabel i konsekvensanalyser. Med

mer kunnskap vil det også komme flere anvendelsesområder.

### SUMMARY

What can DNA analysis tell us about fish in alpine areas? Brown trout (*Salmo trutta*) is the most common and widespread freshwater fish species in alpine areas in Norway. Brown trout is also one of the most widely studied vertebrates within evolutionary and ecological genetics, i.e., genetics that is concerned with the relative importance of genotypic and phenotypic variation between individuals and populations in space and time. Genetic markers and the discovery of the Polymerase Chain Reaction in 1988 (PCR, which replicates targeted DNA segments) help us study such evolutionary and ecological genetic structures and patterns. Mitochondrial DNA is inherited via the egg cell and is consequently subject to mutation (at a relatively constant rate), but not recombination. Therefore, mtDNA is useful for studying evolutionary genetic changes (thousands of years). Microsatellite DNA, short tandem repeated pieces of nucleus DNA, tends to be genetically variable (many alleles) and is therefore frequently used for (near) present population studies, i.e., genetic changes within recent generations. MtDNA studies of brown trout indicate that there are five maternal lines within the natural distributional area in Eurasia and North Africa. Brown trout that naturally colonized Norway via the sea and fjords as the last glacial period receded (13–11 000 before present) appear to stem from populations surviving in Ice Age refugia in rivers in southern France some 230–190 000 years ago. However, because of natural waterfalls, brown trout were unable to colonize the alpine areas in Norway. Colonization here must have happened by the help of man. Microsatellite DNA tracking studies suggest that in some main alpine areas (Hardangervidda,

southern Norway), this happened several thousand years ago, probably by Stone Age reindeer hunters. Unfortunately, detailed genetic studies are however lacking for most alpine areas. Moreover, more recent stocking of alpine watersheds tends to complicate analysis and confound results.

