

Slektskap og kolonisering hos ørekyt

Asbjørn Vøllestad, Unn Hilde Refseth, Camilla L. Nesbø og Kjetill S. Jakobsen



Biologisk institutt
Universitetet i Oslo
Postboks 1066 Blindern
N-0316 Oslo

Forord

Denne undersøkelsen kom i stand som en følge av diskusjoner omkring ørekyt og ørekytspredning i Norge. Den som tok initiativ til denne diskusjonen var Jostein Skurdal ved Østlandsforskning og Heidi Hansen ved DN. Samtidig hadde vi ved Biologisk institutt pågående er vellykket prosjekt på abborens spredningshistorie, studert ved bruk av moderne molekylærgenetiske metoder. Vi ønsket å teste ut om dette molekylærgenetiske verktøyet også kunne brukes til å forstå mer moderne spredningshendelser enn de vi studerte hos abbor. Den gjennomgangen av spredningshistorien som Trygve Hesthagen har gjennomført var svært nyttig for å legge opp denne undersøkelsen. Beata Mohebi og Henrike Simen har gjort en flott innsats på laboratoriet.

Vi vil takke de ulike institusjoner som har finansiert denne undersøkelsen for at de våget å satse på et nytt og relativt uprøvet verktøy. Finansierende institusjoner er (de som har finansiert mest nevnt først): Direktoratet for naturforvaltning, Norges vassdrags- og energidirektorat, Energiforsyningens fellesorganisasjon og Fylkesmannen i Oppland.

Til sist vil vi takke alle de mange medhelpere som har samlet inn ørekyt-haler til oss. Takk også til Per Aass og Jan Henning L'Abée-Lund om informasjon om utsetting av dansk ørret i Norge.

A. Vøllestad, U. H. Refseth, C. L. Nesbø og K. S. Jakobsen 1999. Slektskap og kolonisering hos ørekyt.

Rapport, Biologisk institutt, Universitetet i Oslo.

SAMMENDRAG

Målet med dette prosjektet var å studere populasjonsgenetikken til ørekyt i Norge med sikte på å få økt kunnskap om artens spredningsmekanismer. Ørekyten utvider stadig sitt leveområde, og det er uklart hvordan spredningen skjer. Vi har kunnet fastslå at noen av de nyetablerte bestandene på Hardangervidda har en genetisk historie (en unik mitokondrie-DNA haplotype) som er svært forskjellig fra hva den naturlig utbredte ørekyten har. Innen det naturlige utbredelsesområdet finner vi bare en haplotype. Dette betyr at noe av spredningen trolig skyldes langtransport av levende fisk, dette kan skyldes bruk av levende agn (importert), eller utsetting av ikke kontrollert settefisk importert fra utlandet (med ørekyt som blindpassasjer). En del av den nyetablerte ørekyten har samme genetiske historie som naturlig utbredt ørekyt. I to vann (Legereidvann og Sandvatn) fant vi ørekyt med begge haplotypene; dette tyder på at ørekyten i disse vannene har blitt etablert som følge av to ulike spredningshendelser. Analysene av DNA-fingerprint viste at det var stor genetisk variasjon innen de ”naturlige” ørekytpopulasjonene. Det var som ventet mindre variasjon hos de nyetablerte populasjonene; noen av populasjonene oppviste imidlertid relativt høy genetisk variasjon. Den høye variasjonen i DNA-fingerprintdata hos ørekyt fra Sandvatn og Legereidvatn kan skyldes at det har forekommet minst to spredningshendelser (vi fant to ulike mitokondrie-DNA haplotyper). Også i de andre populasjonene hvor vi fant stor variasjon (Vinstri, Lesjaskogsvatn, Vålåsjøen) antar vi at årsaken er multiple spredningshendelser. Alle disse lokalitetene ligger i populære fiskeområder. Vi kan ikke fastslå i større detalj de ulike ørekytpopulasjonens opphav, til det trengs mer omfattende analyser.

Innledning

Ørekyt har sin naturlige utbredelse begrenset til det sentral Østlandsområdet og Finnmark, med en liten forekomst i Nord-Trøndelag (Huitfeldt-Kaas 1918). Ørekyta har imidlertid i løpet av dette århundret (og spesielt de siste 10-år) blitt spredd til en rekke ny lokaliteter og områder (Huitfeldt-Kaas 1918, Saltveit & Brabrand 1991, DN 1995, Hesthagen & Sandlund 1997, Skurdal *et al.* 1997). Denne spredningen ansees som uheldig (Skurdal *et al.* 1997); ørekyt konkurrerer med andre arter (spesielt aure), og kan være vektor for sykdom og parasitter. Spredning av nye arter, spesielt til artsfattige høyfjellsøkosystemer, vil kunne påvirke det biologiske mangfold der på mange uforutsette måter.

Det er framsatt ulike hypoteser for å forklare hvordan denne spredningen er foregått. Alternative forklaringer er; utsetting av ørekyt for å skaffe byttefisk til ørret, utsetting av ørekyt fordi den utilsiktet følger med når ørretunger settes ut, flytting av ørekyt mellom nærliggende lokaliteter som følge av f.eks. lekende barn, bruk av levende agn ved sportsfiske, spredning av befruktete egg ved f. eks. vannfugl eller flyvende insekter med stadium i vann, eller naturlig spredning. De fleste hypotesene regner med at spredningen er menneskeskapt. Imidlertid er det slik at etter en menneskeskapt spredning har ørekyt en naturlig spredningsevne som videre vil utvide utbredelsesområdet.

Det er mulig å teste de ulike hypotesene for hvordan ørekyt er blitt spredd med å undersøke graden av genetisk likhet mellom populasjoner. Spredningsmønsteret er forholdsvis godt dokumentert i en database utviklet ved NINA (Hesthagen og Sandlund 1997). Ved å samle inn ørekyt strategisk, både i kjerneområder og i spredningsområder har vi forsøkt å rekonstruere genetisk hva som har skjedd. Ved Biologisk institutt har vi

tidligere studert bl.a. hvordan abbor har vandret inn i Norge - og også resten av Europa - fra ulike refugier etter siste istid (Refseth *et al* 1998, Nesbø *et al.* 1999). Dette studiet viste at det var teknisk mulig å skille mellom ulike fylogenetiske linjer av abbor. Dersom det samme var tilfelle med ørekyt, så burde vi kunne etterspore hvor den utsatte ørekyta kom fra (den genetisk historien).

Materiale og metoder

Prøvematerialet

Vi har samlet inn materiale fra totalt 34 bestander av ørekyt fra hele landet (Tabell 1). Det ble sendt ut forespørsel om innsamling av materiale til en rekke kollegaer og institusjoner i området. Innsamlingen foregikk ofte i samband med annet feltarbeid. En bit av halefinnen til mellom 10 og 20 ørekyt ble kuttet av og konservert på 96% etanol. Deretter ble prøvene sendt til Universitetet i Oslo med post.

Tabell 1. Oversikt over innsamlingslokaliteter for ørekyt i Norge. Lokaliteter hvor ørekyt ikke har sin naturlige utbredelse er understreket. Det var ikke mulig å analysere alle prøvene bl.a. på grunn av at endel prøver var dårlig konserverte.

Fylke	Vassdrag
Finnmark	Tanavassdraget, Stuourajavri, Buol'zjavri (Kautokeino)
Nordland	<u>Store Majavatn</u>
Nord-Trøndelag	<u>Limingen</u> , <u>Risvatn</u> , Sørlivassdraget
Sør-Trøndelag	<u>Essandsjøen</u>
Sogn og Fjordane	<u>Jølstravatn</u>
Oppland	Hunnselva, Lena-elv, <u>Vågåvatn</u> , <u>Birisjøen</u> , <u>Vinstri</u> , <u>Sandvatnet</u> , <u>Øvre Heimdalen</u> , <u>Lesjaskogsvatn</u> , <u>Vålåsjøen</u>
Hedmark	Femunden, Søre Osa, Tresa, Glomma, <u>Atnsjøen</u> , <u>Fundin</u> ,
Buskerud	Krødern, småvassdrag ved Modum, <u>Stigstuv</u> , <u>Legereidvatn</u> , <u>Tunhovd</u> , <u>Halnefjorden</u> ,
Telemark	<u>Totak</u> , <u>Kalhovdfjorden</u> , <u>Møsvatn</u> , <u>Mjåvatn</u> , <u>Follsjå</u>

I tillegg til materialet fra Norge har vi mottatt materiale fra to lokaliteter i sentral-Europa (Traun i Østerrike (Donau-vassdraget) og Rhône i Frankrike (Rhin-vassdraget)), med det formål å sammenlikne norsk ørekyt med ørekyt som sannsynligvis er genetisk meget forskjellig. Alle prøvene vi mottok var ikke like godt konserverte, slik at ikke alle prøvene lot seg analysere fullt ut.

DNA isolering

Vi har brukt to ulike genetiske test-systemer på dette materialet. Den ene metoden baserer seg på multilocus fingerprinting av kjerne-DNA, mens den andre metoden tar for seg base-sekvensene i den såkalte kontroll-regionen (D-loop) i mitokondrie-DNA. Vev fra halefinnene ble knust og kuttet i mindre biter, og inkubert over natta ved 37°C i 1 ml lysisbuffer (1 M Tris, 5 M NaCl, 10% SDS og 0,5 M EDTA, pH 8,1, 0,01% β -mercaptoethanol) og 20 μ l proteinase K (10 mg/ml). Etter inkubering ble lysatet behandlet med DNase-fri RNase ved 37°C i 1 time. Prøvene ble ekstrahert en gang med 70% fenol/kloroform og to ganger med kloroform. DNA ble så felt ut med to volumer 96% etanol. De resulterende pelletene ble vasket med 70% etanol, tørket og så resuspendert i sterilt dH₂O.

Mitokondrie DNA

Segmenter av mtDNAs kontrollregion ble amplifisert med PCR (polymerase chain reaction). Ved bruk av kjente spesifikke primere kan man oppkonsentrere definerte områder av DNA-tråden. I de fleste tilfelle finnes egnede primere tilgjengelig via

samarbeidende fagmiljøer i inn- og utland (bl.a. via store internasjonale databaser som er koplet opp mot internett). For ørekyt sin del fungerte ingen av de tilgjengelige primere etter hensikten. Dette førte til at en primer måtte utvikles spesifikt for dette prosjektet, noe som tok uforholdsmessig lang tid. Primerne som ble utviklet hadde følgende sekvens: Ø – D-loop: 5'-TAAGAGACCAACCA-3' og Ø – 12S: 5'-CAGGGATTAAGGGCATA-3' lokalisert i henholdsvis kontrollregionen (D-loop) og 12S rRNA genet. PCR reaksjonen ble utført på en Techno Genius (Techyno (Cambridge) Ltd). Et denatureringstrinn på 5 min, 95°C ble etterfulgt av 35 syklers med denaturering på 95°C i 45 sek, primer-annealing på 48°C i 30 sek og ekstensjon i 72°C i 2 min, detetter 5 min ekstra ekstensjon på 75°C i 5 min og kjøling til 4°C. Etter PCR-amplifisering ble den amplifiserte DNA-biten sekvensert med sekvenseringsprimeren 5'CGGGACCATGCCTTTGTG-3' merket med Texas-red (fluoresenes) i en automatisk Vistra-sekvenseringsmaskin.

DNA fingerprinting

Prøvene ble gjort klar til elektroforese ved å kutte 5 µg av kjerne-DNA med restriksjonsensymet *AluI* (1U/µg DNA) i et total-volum på 10 µl. Etter restriksjonskutting ble *AluI* inaktivert ved å inkubere ved 65°C i 30 min, og 5 µl bromfenolblå appliseringsbuffer ble tilsatt. Denne bufferen inneholder 25 ng/µl λ restriksjonskuttet med *XmnI* og *HindIII* som interne markører til hjelp ved tolkningen av gelene. DNA-fragmentene ble separert i en 1% agarosegel ved ≈1,4 V/cm i 48 timer. DNA-fragmentene ble så overført til Hybond Nfp membraner ifølge produsentens anvisninger.

Filterne (membranene) ble hybridisert til en M13-type probe (Refseth *et al.* 1994) ved 60°C i en rotasjonsovn. Både pre-hybridisering, hybridisering og vasking ble gjort i en 1xSSC-ekvivalent buffer i fravær av blokkerende DNA (Galau *et al.* 1986). Proben ble merket med ^{32}P -dCTP med vektor-spesifikke primere ved hjelp av magnetisk fast-fase merking (MSPL) (Espelund *et al.* 1990, Stacy *et al.* 1991) for å produsere en enkeltrådet probe. Eksponeringene ble vanligvis gjennomført i løpet av ei natt, eller lenger dersom signalet var svakt.

Individer fra ulike populasjoner ble kjørt på ulike geler, i kombinasjon med ulike andre populasjoner. Sammenlikning av fingerprint-bånd kan bare gjøres mellom prøver på samme gel; derfor er det viktig at det kjøres mange geler med ulike kombinasjoner av populasjoner og individer. Et mål på genetisk likhet fikk vi ved å gjennomføre parvise sammenlikninger av hvor mange bånd som ble delt på en gel (alle individer mot alle) (Lynch 1990). Bånddelingsverdien (S-verdien) mellom to individer (x og y) på en gel er definert som:

$$S_{xy} = 2n_{xy} / (n_x + n_y),$$

hvor n_{xy} er antall bånd som deles av de to individene, mens $n_x + n_y$ er det totale antall bånd som er registret hos de to individene tilsammen. Vi velger her å benytte begrepet genetisk avstand:

$$D_{xy} = 1 - S_{xy}$$

når vi sammenlikner individer både innen- og mellom-populasjoner. En verdi av D_{xy} på 1 betyr at individene har ingen felles bånd (stor genetisk avstand), mens når alle bånd er felles, $D_{xy} = 0$, så er den genetiske avstand meget liten (individene er identiske). For hver

gel får vi flere scoringer av D_{xy} verdier både innen populasjoner og mellom populasjoner. Vi oppgir midlere D_{xy} – verdier pr gel, og når scoringer av båndlikhet er gjort på flere geler har vi oppgitt gjennomsnittelige verdier (gjennomsnitt av gjennomsnitt).

Resultatene fra mtDNA-sekvenseringen tolkes om til haplotyper, der individer som har identisk lik DNA-sekvens har samme haplotyper. Basert på sekvensen er det mulig å tolke slektskap mellom ulike haplotyper, i tillegg til at antall mutasjoner som skiller haplotypene kan beregnes.

Resultater og diskusjon

DNA-fingerprinting

Resultatene fra DNA-fingerprintingen er vist i Vedlegg 1 (Gel A til og med Gel G). Det generelle inntrykk er at det er relativt stor genetisk avstand mellom individer fra forskjellige populasjoner (gjennomsnitt \pm sd = $0,89 \pm 0,08$ (N = 94)), noe mindre avstand mellom individer fra samme populasjon (nyetablerte populasjoner: $0,70 \pm 0,12$, ”gamle” populasjoner: $0,75 \pm 0,12$) (Tabell 2). Dette er som forventet, siden individer innen en populasjon sannsynligvis er nærmere i slekt enn individer fra forskjellige populasjoner.

Når vi ser nærmere på den genetisk avstanden mellom individer innen populasjoner så synes noen trender å dukke opp (Tabell 2). For ørekyt innen det naturlige utbredelsesområdet er det stor genetisk variasjon i lokalitetene knyttet til Glomma og Mjøsa; disse populasjonene er sannsynligvis store og har en meget lang historie. Også i Essandsjøen i Nord-Trøndelag var det stor genetisk avstand mellom individene, mens det i Buol’zajavri (Finmark) var relativt liten genetisk avstand mellom individene. Dette siste

skyldes sannsynligvis at den effektive populasjonsstørrelsen er liten. Dersom vi holder populasjonen fra Buol'zajavri utenfor finner vi en gjennomsnittelig genetisk avstand innen populasjonene på $0,77 \pm 0,09$.

Tabell 2. Estimater av genetisk distanse (D_{xy}) mellom individer av ørekyt fra samme populasjon. Disse estimatene baserer seg på gjennomsnitt fra 1 til 5 ulike geler (se Vedlegg 1 for detaljer).

“Nye” ørekyt-lokaliteter		Naturlig utbredelsesområde	
Limingen	0,82	Buol'zajavri (Kautokeino)	0,57
Vinstri	0,86	Essandsjøen	0,74
Sandvatnet	0,82	Hunnselva	0,79
Lesjaskogsvatn	0,74	Lena-elv	0,76
Vålåsjøen	0,63	Søre Osa	0,75
Legereidvatn	0,73	Glomma v. Elverum	0,86
Tunhovd	0,62	Neta	0,89
Halnefjorden	0,59	Femunden	0,77
Stigstuv	0,56		
Totak	0,72		
Mjåvatn	0,50		
Gjennomsnitt \pm sd	0,70 \pm 0,12		0,75 \pm 0,11

I nylig etablerte populasjoner forventes ofte en relativt lav genetisk variasjon siden slike populasjonen ofte er etablert av et lite antall fisk (såkalte foundere – derav begrepet foundereffekt). Samtidig vil populasjonstørrelsen være lav i en periode, noe som åpner for sterk genetisk drift i populasjonen (såkalte flaskehals-hendelser). Genetisk drift er tap av genetisk variasjon som følge av tilfeldigheter innen populasjonen; sannsynligheten for at f.eks. et gen skal tapes ut av populasjonen som følge av en tilfeldighet (dødelighet, tilfeldig parring) er størst når populasjonen er meget liten. For de nyopprettede populasjonene (dvs.

der hvor ørekyt er registrert for første gang i nyere tid) var det relativt stor variasjon i genetisk avstand mellom individer innen populasjonen (Tabell 2). I lokaliteter som Limingen, Lesjaskogsvatn, Vinstri, Sandvatn, Legereidvatn og Totak var den genetiske avstand mellom individene relativt høy. Det kan være ulike grunner til dette. En nærliggende forklaring på den høye genetiske variasjonen er at populasjonene er etablert i flere omganger (flere hendelser). Litt senere vil vi vise at dette helt sikkert er tilfelle i Sandvatn og i Legereidvatn (helt klare mitokondrie-DNA data). Vinstri ligger i tilknytning til Sandvatn, og vi antar at samme forklaring gjelder for denne lokaliteten som for Sandvatn. Når det gjelder Lesjaskogsvatn, og Limingen vi vi tro at flere ulike utsettingshendelser kan være forklaringen på den høye genetiske variasjonen. Limingen ligger svært nær det naturlige utbredelsesområdet til ørekyt, mens veien til Lesja ikke er lang fra områder i Gudbrandsdalen med mye ørekyt. Lavest genetisk variasjon fant vi i Mjåvatn i Telemark (drenerer til Arendalsvassdraget). Dette er en lokalitet hvor ørekyt nylig er oppdaget. Også i en rekke av lokalitetene opp mot Hardangervidda var den genetiske variasjon relativt lav. Dette skyldes sannsynligvis at antall fisk som har bidratt til etableringen av populasjonene har vært lavt.

Når vi sammenlikner individer fra ulike populasjoner forventer vi ofte en større genetisk avstand enn når vi sammenlikner innen populasjonen (dette avhenger imidlertid endel av opprinnelsen til populasjonene som sammenliknes). Dette er også det vanligste bildet (se vedlegg 1). Gjennomsnittelig genetisk avstand mellom individer fra ulike bestander var 0,89 ($\pm 0,08$). Det var en viss forskjell mellom gelene, noe som bl.a. kan skyldes at ulike geler ikke er like lett å tolke (gel A - $0,82 \pm 0,06$; gel B - $0,92 \pm 0,10$; gel C - $0,90 \pm 0,04$; gel D - $0,91 \pm 0,05$; gel E - $0,93 - 0,05$; gel F - $0,88 \pm 0,11$; gel G - $0,90 \pm$

0,04). Men det er én sammenlikning mellom populasjoner som skiller seg ut. Ørekyten i Mjåvatn og Totak ser ut til å være relativt lik; den genetiske avstanden er bare 0,62 (vedlegg 1, gel B). Sammenliknet med de fleste andre inter-populasjon sammenlikningene så er denne verdien meget lav. Dette tolker vi slik at populasjonene i Mjåvatn og i Totak har samme opphav, enten ved at de er etablert samtidig eller mest sannsynlig ved at populasjonen i Mjåvatn er etablert fra individer fra Totak. Ørekyt ble observert i Totak på 1970-tallet, mens ørekyt ble observert første gang i Mjåvatn i 1992 (Hesthagen og Sandlund 1997). Det er ellers ingen av inter-populasjons sammenlikningene av DNA-fingerprint mønstrene som gir klare indikasjoner på spredningshistorien.

Sekvensering av mitokondrie-DNA

Vi har sekvensert ca 270 baser i mitokondrie-DNA's kontrollregion (den såkalte D-loop). Ut fra analysene kan vi skille ut fire hovedhaplotyper (Figur 1). Dersom vi kaller haplotypene A, B, C og D så kan vi si at haplotype A tilhører ørekyt fanget i Østerrike, haplotype B tilhører ørekyt fanget over store deler av Norge, haplotype C tilhører ørekyt fanget i totalt 5 lokaliteter på Hardangervidda og området omkring (Stigstuv, Halnefjorden, Legereidvatn, Totak og Mjåvatn) og i Sandvatn på Valdresflya, mens haplotype D tilhører ørekyt fanget i Frankrike. Haplotype D var svært forskjellig fra alle de andre haplotypene; det var minst 12 mutasjonstrinn mellom D og resten, samt at det trolig hadde forekommet 5 base-delesjoner. Avstanden mellom A, B og C var på 6 mutasjonstrinn mellom hver, noe som indikerer at A er genetisk like forskjellig fra B som fra C. All ørekyt som kommer fra lokaliteter innen det naturlige utbredelsesområdet til ørekyt har haplotype B, dette gjelder ørekyt både i Finnmark, Nord-Trøndelag og på Østlandet. Kun i to lokaliteter fant vi ørekyt

som hadde mer enn en haplotyp; både i Legereidvatn og i Sandvatn fant vi ørekyt med både haplotype B og C.

Hva kan vi si om slektskapet mellom de ulike haplotypene? Haplotype A, B og C er alle adskilte fra hverandre med 6 mutasjonstrinn, og vi fant ingen mellomformer mellom disse haplotypene. Haplotype A er fra Donau-området, og var forventet å være forskjellig fra ørekyt i Norge. Derimot var det meget overraskende at haplotype B og C var så forskjellig. Haplotype D var svært forskjellig fra alle de andre haplotypene og indikerer at det går et tydelig skille mellom ørekyt fra Rhin-området og sør-vest Europa og Donau-området og nord-øst Europa. Vi tar videre utgangspunkt i haplotyp A, B og C. En genetisk forskjell på 6 mutasjonstrinn kan under gitt forutsetninger omregnes til genetisk avstand (målt som tid siden segregering). Vi kan for eksempel sammenlikne med data fra mtDNA-sekvenser fra den samme kontrollregionen til abbor (Nesbø et al. 1999). Der fant vi at det var 6 mutasjonstrinn mellom haplotypene i Hellas og de vi fant i Norge; ut fra disse mer omfattende og fullstendige data ble det beregnet en tid siden adskillelse mellom gruppene på 100 000 – 200 000 år. Dersom en slik tidsangivelse er bare nogenlunde korrekt (vi må huske at mutasjonsratene til abbor og ørekyt kan være forskjellig) antyder det uansett at disse gruppene av ørekyt opprinnelig har vært adskilt siden før siste istid. Ørekyten i Rhin-området må isåfall ha blitt atskilt fra ørekyten i nord-øst Europa for meget lenge siden.

Innen det naturlige utbredelsesområdet til ørekyt fant vi bare en haplotype (B). Dette betyr at innen dette spesielle området av kontrollregionen i mtDNA har det ikke forekommet noen mutasjoner i perioden etter at ørekyten innvandret til Norge, ei heller var det noen genetisk variasjon mellom de individene som vandret inn. Dette kan betyr 1) at founder-populasjonen har vært relativt liten, 2) at ørekytens D-loop muterer svært sakte,

eller 3) at ørekyten som vandret inn etter istiden nylig hadde vært gjennom en kraftig genetisk flaskehals. Fingerprintdataene viser egentlig relativt høy genetisk variasjon, mens mitokondrie-DNA dataene viser lav variasjon. Siden mitokondrie-DNA kun arves fra mor til datter (uten rekombinering) vil den effektive populasjonsstørrelsen være halvparten så stor for mitokondrie-gener som for nukleære gener. Dette gjør mitokondrie-genene mye mer utsatt for genetisk drift enn nukleære gener ved flaskehals-hendelser. Vi anser derfor forklaring 3 som den mest sannsynlig forklaring på det vi observerer. Sammenliknet med abbor finner vi svært liten variasjon i mitokondrie-genomet hos ørekyt. Hos abbor antar vi bl.a. at øst-Norge er invadert av abbor i to ulike bølger, og den abboren som kom sist kom fra et annet istidsrefugium enn den abboren som kom først (Refseth et al. 1998, Nesbø et al. 1999). Ut fra at ørekyt finnes naturlig i Finnmark kan vi anta at ørekyt og abbor vandret inn til Norge i samme periode, umiddelbart etter at isen trakk seg tilbake.

Tabell 3. Oversikt over mitokondrie-DNA haplotyper som er funnet i ulike lokaliteter. Lokaliteter der ørekyt ikke er naturlig utbredt er understreket.

Fylke / land	Vassdrag	Haplotype
Frankrike	Rhône	D
Østerrike	Traun	A
Finmark	Tanavassdraget	B
Finmark	Stuorajavri	B
Finmark	Buol'zajavri	B
Nordland	<u>Store Majavatn</u>	B
Nord-Trøndelag	<u>Risvatn</u>	B
Sør-Trøndelag	<u>Essandsjøen</u>	B
Sogn og Fjordane	<u>Jølstravatn</u>	B
Oppland	Hunnselva	B
Oppland	<u>Vinstri</u>	B
Oppland	<u>Sandvatn</u>	B, C
Oppland	Lena elva	B
Oppland	<u>Lesjaskogvatn</u>	B
Hedmark	Femunden	B
Hedmark	Søre Osa	B
Hedmark	Glomma	B
Buskerud	Krøderen	B
Buskerud	<u>Tunhovd</u>	B
Buskerud	<u>Halnefjorden</u>	C
Buskerud	Døvikfoss	B
Buskerud	<u>Legereidvatn</u>	B, C
Buskerud	<u>Stigstuv</u>	C
Telemark	<u>Totak</u>	C
Telemark	<u>Mjåvatn</u>	C

Oppsummering

Den genetiske differensieringen mellom ørekyt innen sitt naturlige utbredelsesområde i Norge er relativt lav basert på mt-DNA sekvenser, men høy nok til at DNA-fingerprinting gir vanskelig tolkbare data. Dataene viser også at ørekyten som er nyetablert i fem lokaliteter på og nær Hardangervidda, og i en populasjon på Valdresflya er genetisk svært forskjellig fra den ørekyt som finnes innen det naturlige utbredelsesområdet. Vi antar derfor at denne ørekyten har sitt opphav utenfor Norge, og at den er transportert hit av mennesker av en eller annen grunn. Det er to alternativer; ørekyten kom hit for å brukes som levende agn (transportert ulovlig over landegrensene), eller den kom hit fra utlandet sammen med settefisk av f.eks. aure. I perioden fra krigen til ut på 1960-tallet ble det i stor skala importert øyerogn og yngel av ørret fra Danmark til Norge (Per Aass, personlig meddelelse). Denne fisken ble drettet videre opp til egnet settefisk i sentrale damanlegg, og senere satt ut over store deler av landet. På denne tiden var kontrollapparatet meget lite utbygd, samtidig som regelverket når det gjelder fiskeutsettinger var svært svakt. Når det gjelder import av ørekyt i forbindelse med sportsfiske med levende agn så selges småfisk til slik bruk i sportsforretninger i enkelte Europeiske land, og mange bo-biler kan enkelt utstyres med et lite akvarium og en luftpumpe.

Dataene viser også at ørekyt i minst to av lokalitetene hvor ørekyt nylig er etablert har fått tilskudd av ørekyt minst to ganger (med ørekyt fra vidt forskjellige steder). Dette gjelder Legereidvatn og Sandvatn. Det er også sannsynlig at ørekyt er innført til flere av lokalitetene i flere omganger, dette viser bl.a. den store genetiske variasjonen innen endel av lokalitetene.

Resultatene presentert her, samt forekomsten av nylig etablerte eksotiske arter som regnlaue og sandkryper i Norge, tyder på at kontrollen med innførselen av levende organismer over grensen ikke er tilfredsstillende. Både regnlaue og sandkryper er små arter som brukes mye som levende agn ved fiske etter f.eks. aure og andre fiskespisende arter (f.eks. gjedde). Det samme gjelder ørekyt. I Europa er det lang tradisjon for den slags fiske, og det forligger så vidt vi vet intet generelt forbud mot dette. Små fisk til bruk som agn finnes til salgs i de rette forretninger. Også i Norge er det tradisjon for å bruke ørekyt og annen småfisk som agn (både som levende og dødt agn), dette til tross for at bruk av levende agn har vært forbudt i 25 år. Uten at man får kontroll med bruken av levende agn vil man ikke få kontroll med spredningen av ørekyt og andre mer eksotiske fiskearter.

Referanser

- DN 1995. Spredning av ferskvannsorganismer. Seminarreferat. *Direktoratet for Naturforvaltning - Notat* 1995 - 4.
- Espelund, M., R. A. P. Stacy and K. S. Jakobsen 1990. A simple method for generating single-stranded DNA probes labeled to high activities. *Nucleic Acids Research* 18: 6157-6158.
- Galau, G. A., D. W. Hughes and L Dure III 1986. Abscisic acid induction of cloned cotton late embryogenesis-abundant (LEA) mRNAs. *Plant Molecular Biology* 7: 155-170.
- Hesthagen, T & Sandlund, O.T. 1997. Endringer i utbredelsen av ørekyt i Norge: årsak og effekter. *Norsk Institutt for Naturforskning, Fagrapport* 013.
- Huitfeldt-Kaas, H. 1918. *Ferskvandsfiskenes utbredelse og indvandring i Norge, med et tillæg om krebsen*. Centraltrykkeriet, Kristiania.
- Lynch, M. 1990. The similarity index and DNA fingerprinting. *Molecular Biology and Evolution* 7: 478-484.
- Nesbø, C.L., T. Fossheim, L. A. Vøllestad og K. S. Jakobsen 1999. Genetic divergence and phylogeographic relationship among European perch (*Perca fluviatilis*) populations reflect glacial refugia and postglacial colonisation during the two last glaciations. *Molecular Ecology* in press
- Refseth, U. H., I. B. Mjølnerød og K. S. Jakobsen 1994. Improved multilocus DNA fingerprinting pattern of Atlantic salmon (*Salmo salar*) using a M13 probe containing both tandem repeat regions. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 347-354.
- Refseth, U.H., C. L. Nesbø, J. E. Stacey, A. Vøllestad, E. Fjeld og K. S. Jakobsen. 1998. Genetic evidence for different migration routes of freshwater fish into Norway revealed by analysis of current perch (*Perca fluviatilis*) populations in Scandinavia. *Molecular Ecology* 7: 1015-1027.
- Saltveit, S.J. & Brabrand, Å. 1991. Ørekyt. En litteraturoversikt om økologi og utbredelse i Norge. *Rapport, Laboratorium for Ferskvannøkologi og Innlandsfiske* 130, 21 s

Skurdal, J., Hartvigsen, R., Hesthagen, Ø., Vøllestad, A. & Aas, Ø. 1997. Et krafttak mot ørekyte.

Handlingsplan for å begrense spredning og forekomst av ørekyte i Norge. *Østlandsforskning - Notat* nr. 16/1997.

Stacy, J. E., R. A. Ims, N. C. Stenseth og K. S. Jakobsen 1991. Fingerprinting of diverse species with DNA-probes generated from immobilized single-stranded DNA-templates. *Nucleic Acids Research* 19: 4004.

Figur 1. Visualisering av en 270 basers sekvens fra kontrollregionen (D-loop) i mitokondrie-DNA til ørekyt fra et utvalg lokaliteter. Hver av de 4 basene (A, T, G eller C) er visualisert med sin egen farge og bokstav. Over aksene angis med nummer hvor i basesekvensen vi er (fra feks 5 til 265). Navnet til venstre for kolonnene indikerer hvilket individ som er vist (f.eks Vinstri2 er individ 2 fra Vinstri). Ved å sammenlikne en baseposisjon vertikal (dvs. mellom individer) kan man se hvor det har skjedd en mutasjon (ved baseposisjon 35 har de fleste individene basen G, mens individene Traun4, 5 og 8 har basen A). Slike mutasjoner er markert med et hvitt felt. Enkelte baser lot seg ikke identifisere; disse er markert med en N (og svart farge). Individer fra følgende populasjoner vises: Vinstri (2 og 3), Hunnselva (1 og 2), Tunhovdfjorden (3), Legreidvatn (2 og 3), Mjåvatn (4 og 5), Halnefjorden (1 og 7) og en lokalitet i Østerrike (Traun 4, 5 og 8).

Figuren er ikke tilgjengelig

Vedlegg 1. Estimerer av genetisk distanse mellom individer av ørekyt innen en populasjon eller mellom to og to populasjoner. Slike estimerer har kun gyldighet innen en gel, siden det kan være små kvalitative forskjeller mellom geler som skyldes metodens mange trinn. Vi viser derfor estimatene for alle gelene separat (merket som Gel A til Gel G). De tallene som står på diagonalen er intra-populasjons estimerer av genetisk distanse, dvs. den genetiske forskjellen mellom individer innen en populasjon (som eksempel er intra-populasjons estimatet av genetisk distanse for ørekyt fra Femunden 0,87 (Gel A)). Tallene utenfor diagonalen er inter-populasjons estimerer (sammenlikninger av individer fra ulike populasjoner; som eksempel er inter-populasjons estimatet av genetisk avstand mellom ørekyt fra Femunden og Søre Osa 0,89 (Gel A)).

Vedleggene er ikke tilgjengelig