

LÍFFRÆÐISTOFNUN HÁSKÓLANS
FJÖLRIT NR. 35

**SKERÐIBÚTAGREINING Á mtDNA
BLEIKJU, LAX OG URRÍÐA**

Einar Árnason
Snæbjörn Pálsson

Reykjavík, 27. júlí 1993

Efnisyfirlit

1 Inngangur	1
2 Aðferðir	4
2.1 Sýnataka	4
2.2 Einangrun mtDNA	4
2.3 Skerðing og greining mtDNA	5
2.4 Skerðimunstur og erfðafjarlægðir	5
3 Niðurstöður og úrvinnsla	7
3.1 Bleikja	7
3.1.1 Samanburður við athuganir annarra	7
3.2 Lax	9
3.2.1 Samanburður við athuganir annarra	10
3.3 Urriði	11
3.3.1 Samanburður við athuganir annarra	11
3.4 Samanburður á skerðimunstrum tegundanna	14
4 Umræður	18
5 Heimildir	21

Skrá yfir myndir

1 Stökkbreytingar á milli skerðimunstra bleikju, lax og urriða. . . .	16
---	----

Skrá yfir töflur

I Skerðibrigði einstakra bleikja	8
II Skerðibrigði einstakra laxa	9
III Skerðibrigði einstakra urriða	11
IV Skerðimunstur sexbasa ensíma	12
V Skerðimunstur fjögrabasa ensímsins <i>Msp</i> I	13
VI Lágmarksfjöldi stökkbreytinga á milli skerðimunstra bleikju, lax og urriða.	15
VII Fjöldi skerðisæta sexbasa ensíma hjá hverri tegund og fjöldi sameiginlegra skerðisæta.	17

©Stofnerfða- og þróunarfræðistofa
Líffræðistofnun Háskólans
Öll réttindi áskilin

Umbrot gert með L^AT_EX fjölvum T_EX.
Mynd gerð með Tgif.

Líffræðistofnun Háskólans. Rit 35.

Einar Árnason. Skerðibútagreining á mtDNA
bleikju, lax og urriða.
Snæbjörn Pálsson. - Reykjavík, 1993.
(Líffræðistofnun Háskólans. Rit 35).

1 Inngangur

Í lífríki Íslands er almenn tegundafæð. Í ferskvatni lifa hér aðeins fimm tegundir fiska. Líklegt er að þessar tegundir hafi numið hér land frá sjó eftir síðasta kuldaskið ísaldar, eða u.þ.b. á síðustu tíu þúsund árum. Þessar tegundir lifa beggja megin Atlantshafs, í Evrópu og Norður-Ameríku. Þrjár þeirra, bleikja (*Salvelinus alpinus*), lax (*Salmo salar*) og urriði (*Salmo trutta*), tilheyra einni af þrem undirættum laxfiska (Salmoninae). Af ættinni, Salmonidae, eru þekktar um sjötíu tegundir (Grewe og fél. 1991). Fjölbreytilegar svipgerðir sem og mismunandi lífssögumunstur eru þekkt bæði innan og milli þessara tegunda (Noakes og fél. 1989). Vegna þessa breytileika hafa tegundaskilgreiningar meðal þessara fiska verið óljósar og í endurskoðun. Þannig var urriðinn talinn til fleiri en fimmtíu tegunda, regnbogasilungur (*Salmo gairdneri*) og *Salmo clarkii* voru taldar vera 44 tegundir í Norður Ameríku (Behnke 1972; 1986). Ætla má að tegundafæð hér á landi gefi hverri tegund möguleika á að breikka vistir sínar vegna minni samkeppni við aðrar tegundir miðað við tegundaaudugri samfélög (sjá t.d. Sigurður S. Snorrason 1990; Skúli Skúlason og fél. óbirt) og að sú breikkun komi fram í auknum breytileika innan tegunda. Aukinn breytileiki innan tegundanna kann að liggja í muni á milli einstaklinga en hann kann einnig að liggja í muni á milli stofna sem hver um sig hefur aðlagast staðbundnum aðstæðum. Genafæði á milli slíkra stofna hamlar hinsvegar gegn því að staðbundin afbrigði verði til.

Það er því rannsóknarvert hvort héraendis megi greina aðlaganir að staðbundnum aðstæðum, sérstaklega ef saman fer þekking á stofngerð tegundar og á genafæði því þá má meta styrk þeirra krafta sem verka staðbundið þrátt fyrir genafæðið. Þekktar eru mismunandi svipfarsgerðir hjá þessum tegundum og hefur svipfar bleikjanna í Þingvallavatni verið mest rannsakað hér á landi (Sigurður S. Snorrason 1990; Skúli Skúlason 1990). Hjá bleikju eru einnig þekkt tvö mismunandi lífsmynstur, eitt hjá sjóbleikju og annað hjá vatnableikju (Tumi Tómasson 1989). Hjá urriða eru þekktar mismunandi svipfarsgerðir (t.d. mismunandi litarafbrigði í Lagarfljóti [Einar Þórarinsson á Fljótsbakka á Héraði, munnleg heimild]. Sjóbirtingur og urriði í ám og vötnum eru hvort tveggja urriðar en með mismunandi lífsferli. Laxar eru einnig breytilegir að útliti og og kynþroski laxa er breytilegur þannig að laxar á sunnan og vestanverðu landinu ganga í árnar eftir eitt ár í sjó en laxar frá norðan og norðaustanverðu landinu ganga í árnar eftir tvö ár. Þetta er almenn regla þótt innan hvors hóps sé breytileiki í kynþroskaaldri tengdur umhverfisskilyrðum (Scarnecchia 1983; Sigurður Guðjónsson 1990).

Auk áhugaverðrar líffræði eru þessar tegundir einnig áhugaverðar vegna nytja og sportveiða. Áhyggjur sportveiðimanna vegna veiða á laxi í sjó hafa komið fram og spurningar um áhrif erfðablöndunar vegna seiðasleppinga og vegna eldisfisks sem sleppur úr kvíum hefur einnig verið til umræðu. (Sigurður Guðjónsson 1988; Friðrik Sigurðsson 1988; Knox og Verspoor 1991).

Þekking á stofngerð tegunda og erfðabreytileika (Einar Árnason og fél. 1992) eykur og er nauðsynleg til skilnings á þeim málum sem nefnd hafa verið hér að ofan. Til dæmis spurningar um það hve skyldir fiskar með mismunandi útlit eða lífssögu eru, hvort lax við Færeyjar sé úr íslenskum ám, eða hvort hægt sé að aðgreina eldislax frá villtum stofnum með erfðafræðilegum aðferðum.

Stofngerð og genaflæði hafa verið metin með ýmsum aðferðum sem byggjast t.d. á greiningu svipfars eða rafdrætti próteina. Á síðustu árum hafa athuganir á DNA til að fást við spurningar í stofnerfðafræði og kerfisfræði (systematics) orðið æ algengari. Helstu kostir á slíkri greiningu eru: *a)* að arfgerðin frekar en svipgerðin er skoðuð, *b)* að hægt er að velja mismunandi erfðaeftir því hvaða spurningar eru settar fram, þ.e. með tilliti til hversu hratt erfðaeftir þróast og hvernig það erfist, *c)* að aðferðirnar gilda að mestu leyti á hvaða DNA sem er, og *d)* að hægt er að fá nægjanlegt DNA úr litlu magni af vef (Dowling og fél. 1990).

Greining á erfðabreytileika litnings orkukorna (mitochondrial DNA: mtDNA) hefur reynst vera öflugt tæki til þróunarfræðilegra rannsókna á dýrum (Allendorf og fél. 1987, Moritz og fél. 1987, Avise 1989, 1990, 1992, Meyer og fél. 1990). Aðferðirnar hafa reynst henta vel til rannsókna á sögulegri og nútíðar líflandafræði á breytileika innan tegunda (Avise og fél. 1987a, 1987b, Bermingham og Avise 1986, Avise 1992). Aðferðin byggist á ættartrjám gena úr einstaklingum og tengslum á greinum trjáanna við landfræðilegu einstaklinganna (Avise 1989, 1992). Á samambærilegan hátt má bera saman, sem óháða þætti, svipfarsgerðir og þróunartré mtDNA og greina þannig þróun svipfarsgerða, hvort ákveðnar svipfarsgerðir hafi þróast einu sinni eða oft (Harvey og Pagel 1991).

Skerðibútagreining, sem byggir á samamburði á fjölda og stærð skerðibúta sem greinast eftir að DNA úr mismunandi einstaklingum er klippt niður með skerðiensímum, gefur hvorttveggja upplýsingar um hversu mikill munur er á milli DNA raða og hvernig sá munur liggur, þ.e. hægt er að rekja breytingar milli munstra. Út frá slíkum samamburði má síðan meta stofngerð tegundar og skyldleika milli tegunda.

Nokkrar athuganir hafa verið gerðar til að meta breytileika mtDNA hjá laxfiskum með skerðibútagreiningu og er skerðimunstur margra ensíma nú vel þekkt. Ættartré nokkurra tegunda innan Salmoninae hafa verið gerð (Grewe og fél. 1991; Berg og Ferris 1984), mismunandi svipfarsgerðir hafa verið athugaðar (Danzmann og fél. 1991) sem og landfræðilegir stofnar (Jónasson 1987; Bermingham og fél. 1991; Birt og fél. 1986) og þá hefur samamburður á eldisfiski og villtum stofnum verið gerður (Knox og Verspoor 1991).

Í þessu riti lýsum við skerðibútagreiningu á mtDNA vatnableikju og sjóbleikju, mtDNA laxa úr nokkrum ám og mtDNA urriða hér á landi. Niðurstöður okkar greiningar eru bornar saman við athuganir annarra fyrir þau ensím sem við notuðum. Rannsókn þessi er hluti af stærra verkefni sem nær til annarra

lífvera með mismunandi lífsögu (Árnason og fél. 1992a,b). Markmið þess er að rannsaka erfðabreytileika og þá krafta sem móta hann í þessu landi tegunda-
fæðar þar sem vænta má breyttra þróunarkrafta miðað við önnur lönd.

2 Aðferðir

2.1 Sýnataka

Hrognasekkjum var safnað haustið 1989. Hrogn úr vatnableikjum fengust úr tveim vötnum: Skorradalsvatni í Borgarfirði og Ölvesvatni á Skaga í Austur-Húnavatnssýslu. Hrogn úr sjóbleikju fengust frá Hítará á Mýrum og Vatnsdalsá í Austur-Húnavatnssýslu. Laxahrogn fengust frá Hraunfirði, Lárósi og Straumfjarðará á norðan og sunnanverðu Snæfellsnesi, Laxá í Aðaldal í Suður Þingeyjarsýslu og einnig úr Norskum eldislax frá Lóni í Öxarfirði. Sýni úr urriða voru aðeins frá einum stað, Tungulæk í Landbroti, Vestur Skaftafellssýslu. Skerðibútagreiningin fór fram vetur og vor 1990.

2.2 Einangrun mtDNA

Einangrun og hreinsun mtDNA var gerð úr hrognum með ísúrri rofaðferð (alkaline lysis). Byggt er á aðferðum sem notaðar eru til einangrunar og hreinsunar plasmíða frá bakteríulitningum (Birnboim og Doly 1979), sem grundvallast á því að hringlaga DNA, eins og plasmíð DNA og mtDNA, þolir hátt pH um stund en línulegt DNA (úr litningi bakteríu eða kjarna kjarnfrumungs) eðlissviftist mjög fljótt við hátt pH; þegar lausnin er gerð hlutlaus á ný fellur línulegt DNA út ásamt próteinum bundnum SDS (en SDS er sápa sem er höfð með til að rjúfa frumuhimnur). Með tímabundinni pH breytingu má því aðgreina hringlaga mtDNA frá línulegu erfðaeefni. Ýmsar útgáfur eru af þessari aðferð til einangrunar mtDNA sem við aðlöguðum að okkar aðstæðum (t.d. Palva og Palva 1985; Tamura og Aotsuka 1988).

mtDNA var oftast einangrað innan tveggja til þriggja daga frá komu hrogna. Unnið var með hrogn átta einstaklinga samtímis og glös jafnan kæld á ísmulningi á öllum stigum einangrunar. 5–15 ml af hrognum voru þvegnir einu sinni til tvisvar í um þreföldu rúmmáli af TEK dúa (50 mM Tris pH 7.5, 10 mM EDTA, 1,5 % KCl) og floti hellt af þegar hrognin voru sest til. Hrogn voru þarnæst kramin í vatnskældum glerkremjara með teflon bullu. Kjarnar voru botnfelldir með spuna í 6 mínútur við $700 \times g$ (2.800 rpm í Sorvall JA 20 rótor) og flot flutt á ný glös. Orkukorn voru því næst botnfelld með spuna í 10 mínútur við $10.000 \times g$ (10.000 rpm í sama rótor). Floti var hellt af og botnfall flutt í 1,5 ml eppendorfglös. Botnfalli var skipt í tvö glös, leyst upp í 200 μ l TEN dúa (10mM Tris pH 8,0, 10mM EDTA pH 8,0, 150 mM NaCl) og blandað. Síðan var bætt á 500 μ l af innan við vikugömlu alkSDS (0,18 M NaOH, 1 % SDS), hrist jafnóðum og látið standa á ís í 5 mínútur. Við þessa sápu meðhöndlun og sýrustigshækkun upp í u.þ.b. pH 12 brotnar himna orkukorna niður og línulegt DNA eðlissviftist. Að þessu loknu var lausnin gerð hlutlaus með því að bæta á 375 μ l ediklausn (3 M NaAc stillt á pH 4,8 með ediksýru) og blandað (glasi hvolf). Glös voru þá sett á ís í 5 mín. Eðlissvipt DNA binst saman og er

skilið niður ásamt próteinum samtvinnuðum með SDS ásamt þungum RNA sameindum með spuna í 5 mín í smávindu. Flotinu, sem inniheldur hringlaga mtDNA, prótein og litlar RNA sameindir, er skipt á tvö smellhettuglös (1,5 ml eppendorf glös), þ.e. 550 μ l í hvort glas. Til frekari hreinsunar var jafnmiklu rúmmáli af klóróform/isoamylalkóhóli 1:24 bætt út á glösin og þau hrist og spunnin í tvær mínútur í smávindu. Þetta var endurtekið þar til millifasin hvarf. Til að fella út mtDNA var tvöföldu rúmmáli af 99% etanóli bætt á og spunnið í 20 mínútur. Botnfall var þvegið í 250 μ l af 70 % EtOH, þerrað í um 2 mínútur í lofttæmi, og leyst í 25 μ l TE (10 mM TrisHCl pH 8,0, 1 mM EDTA). RNA var melt með RNasa (20 μ g/ml) (ef með þurfti voru sýni jafnframt fenólþvegin (þynnt í 500 μ l, þvegið einu sinni með fenóli og einu sinni með klóróform/isoamylalkóhóli 1:24).

2.3 Skerðing og greining mtDNA

Einangrað mtDNA úr 30 laxfiskum var klippt með 12 sexbasa skerðiensímum og einu fjögrabasa skerðiensími. Skerðiensím þekkja ákveðnar basaraðir í DNA og þau klippa erfðaeefnið í sundur í eða við þetta skerðisæti, þetta er kallað skerðisæti ensímanna. Ef fjöldi basa í skerðisæti er sex kallast ensímin sexbasa, en fjögrabasa ef þau klippa við röð fjögurra basa. Sexbasa ensímin voru: *Bam*H I, *Bcl* I, *Bgl* I, *Eco*R I, *Hind* III, *Mlu* I, *Pst* I, *Pvu* I, *Sal* I, *Xba* I og *Xho* I. *Bgl* I. Fjögrabasa ensímið var *Msp* I. Hlutföll basa G, A, T og C í skerðisætum sexbasa ensímanna er (í sömu röð): 1, 0,94, 0,94 og 1, þannig að sýnatökuaðferðin er ekki bjöguð með tilliti til einstakra basa. Klippt var við þau skilyrði sem framleiðendur ensíma mæltu með en þeir voru Bethesda Research Laboratories (BRL), Amersham International, og Scandinavian Diagnostic Services.

Skerðibútar mtDNA voru endamerktir með því að fylla í yfirhengjur með viðeigandi α S³⁵S-dNTP með 5' \rightarrow 3' fjölliðun ýmist með Klenow hluta DNA polymerasa I eða T4 DNA polymerasa (Sambrook ofl. 1989). Skerðibútar ásamt endamerktum stærðarviðmiðunum (λ -DNA klippt með *Hind* III, 1 kílóbasa (kb) stiga, og 123 basapara (bp) stiga frá BRL), voru rafdregin í 0,7%–2,0% agarósa hlaupi. Að loknum rafdrætti voru hlaupin þurrkuð og geislamynduð (autoradiographed).

Skerðibrigði hvers einstaklings fyrir hvert ensím var lesið af myndum. Stærð búta var ákvörðuð með því að teikna á hálf-lógariþma pappír feril stærðarviðmiðunar úr viðkomandi hlaupi. Stærð mtDNA búta var ákvörðuð með samanburði við þann feril (Sambrook ofl. 1989). Skerðimunstur tveggja einstaklinga voru sögð vera eins ef stærðir búta voru þeir sömu eða nærri því.

2.4 Skerðimunstur og erfðafjarlægðir

Skýra má mun milli skerðimunstra með því að skerðisæti hafa tapast eða myndast við stökkbreytingar. Ein stökkbreyting getur þannig orsakað samruna

tveggja banda eða skiftingu á einu bandi í tvö. Ef slíkt gerist ætti summa minni bandanna tveggja að vera jöfn og lengd stærsta bandsins. Slík tengsl milli munstra er algengt að greina innan tegundar en einnig má búast við slíku milli náskyldra tegunda. Með samanburði á skerðimunstrum má ráða hveru mörg skerðisæti og þar með hversu mörgum stökkbreytingum munar á milli þeirra og reikna erfðafjarlægðir þar af. Sjá nánari útskýringar hjá Einar Árnason og fél. (1992).

Greiningar á skerðibrigðum skiptast í tvo flokka. Annarsvegar greiningu sem byggir á fjölda sameiginlegra banda og hinsvegar, það sem er ákjósanlegra, samanburð á sameiginlegum skerðisætum (sjá t.d. Swofford og Olsen 1990 og umræðukafla hér aftar).

Þegar staðsetning skerðisæta ensíma á DNA eru þekkt má reikna út erfðafjarlægðina milli tveggja skerðibrigða út frá samanburði á sameiginlegum skerðisætum og þeim sem ber á milli (aðferð Nei og Li (1979)). Látum m_X og m_Y tákna fjölda skerðisæta á DNA litningum X og Y , og látum m_{XY} tákna fjölda sameiginlegra skerðisæta hjá litningunum. Líkurnar á að X og Y hafi sama skerðisæti á ákveðnum stað er táknað með S , sem meta má með:

$$\hat{S} = \frac{2m_{XY}}{m_X + m_Y}$$

Erfðafjarlægðina, d (fjöldi breyttra basa per basasæti), má síðan reikna með eftirfarandi jöfnu:

$$d = -\frac{3}{4} \ln \frac{4\hat{S}^{1/r} - 1}{3}$$

þar sem r tákna fjölda basa í skerðisæti.

3 Niðurstöður og úrvinnsla

3.1 Bleikja

Í töflu I má sjá skerðibrigði einstakra bleikja. Tafla IV sýnir stærðir skerðibúta í skerðimunstrum hvers ensíms hjá bleikju, laxi og urriða. Eitt sexbasa ensím *Pvu* II gaf tvö munstur A og B. B munstur fannst eingöngu í Skorradalsvatni, sjá töflu I. Athyglisvert er hve ólík A og B munstur eru. Summa bandanna í hvoru munstri er einnig frábrugðin: 17,2 kb í A munstri og 15,2 kb í B munstri. Hér kemur tvennt til, A munstur er ofmetið en B munstur vanmetið ef miðað er við meðaltal litningsins. Hugsanlegt er að tvö bönd séu af svipaðri stærð í B munstri, myndi tvíband, og er þá talið sem eitt band. Skerðing með öðrum sexbasaensímum sýndu engan breytileika. *Msp* I gaf eitt öruggt munstur, sjá töflu V. Það voru þó dauf merki um tvö önnur munstur: B (með 1300 basa band) og C (með 600 og 490 basa bönd). A munstur greindist hjá VÁ4, ÖV7, SV3, HÁ5 og HÁ9, B munstur greindist hjá VÁ5 og VÁ6 og C munstur greindist hjá SV2. Skerðimunstur *Mlu* I greindist hjá SV5, VÁ4, VÁ5, HÁ6, HÁ8, HÁ9 og ÖV5. Heildarfjöldi basa sem var athugaður með sexbasa ensímum, í hverjum einstakling, má reikna sem fjölda skerðisæta sinnum sex (þ.e. fjölda basa í skerðisæti), þetta eru alls 144 basar. Mat á stærð litningsins fæst með því að leggja saman stærð allra banda. Meðaltal litningsins er $16,8 \pm 0,13$ kb.

3.1.1 Samanburður við athuganir annarra

Aðrar athuganir hafa verið gerðar á skerðibrigðum hvatbera í íslenskri bleikju. Jón Erlingur Jónasson (1987) athugaði bleikjur úr Víðidalsá. Eitt sex basa ensím *Pvu* II gaf tvö munstur: A og B. A munstrið er aðeins frábrugðið okkar A munstri en þau frávik eru innan óvissumarka í stærðarmati. B munstrið er hinsvegar það sama og við fundum í Skorradalsvatni. Jón greindi einnig tvö munstur með *Hind* III í norskri bleikju. Danzmann og fél. (1991) í ítarlegri úttekt á skerðibrigðum hinna fjögurra svipfarsgerða Þingvallahleikjunnar greindu lítinn breytileika meðal þeirra. Þeir fundu nýtt munstur með *Bcl* I í einni kuðungableikju. *Pvu* II munstur þeirra var sama og okkar A munstur. Með tveimur skerðiensímum *Mlu* I og *Xho* I greindu þeir engin skerðisæti, við fengum hinsvegar eitt skerðisæti með báðum þessum ensímum. Auk þessa greindu þeir tvö munstur með þremur öðrum ensímum (*Acc* I, *Ava* I, og *BstE* II) sem við notuðum ekki. Skerðimunstur með *Msp* I hjá Þingvallahleikjunni (*Hind*ar og Jónasson óbirtar niðurstöður; sjá Danzmann og fél. 1991) er það sama og hjá okkur (tafla IV). Þá greina Danzmann og fél. (1991) frá litlum mun (mest 0,5%) meðal íslenskra og breskra bleikja og bleikju í Maine fylki í Bandaríkjunum. Þessar bleikjur greinast frá systurtegund bleikjunnar *Salvelinus alpinus stagnalis* sem finnst í Norður Ameríku og er þar byggt á samanburði

Tafla I: Skerðibrigði eða haplótýpur einstakra bleikja fyrir öll sexbasa ensím. Skerðimunstur ensímanna er gefin í eftirfarandi röð: 1) *Bam*H I, 2) *Bcl* I, 3) *Bgl* II, 4) *Eco*R I, 5) *Hind* III, 6) *Pst* I, 7) *Pvu* II, 8) *Sal* I, 9) *Xba* I og 10) *Xho* I. ?: líklega A munstur, O: ekkert skerðisæti greindist. Taflan sýnir einnig niðurstöður annarra og í þeim tilfellum skerðibrigði ensíma sem eru þau sömu og okkar.

	Staður:	Skerðibrigði:
Vatnableikja:		
	Skorradalsvatn(SV2)	AAAAAABAAA
	Skorradalsvatn(SV5)	AAAAAABAAA
	Ölvesvatn(ÖV2)	A? ? ? AAA
	Ölvesvatn(ÖV3)	AAAAAAAAAAA
	Ölvesvatn(ÖV4)	AAAAAAAAAAA
	Ölvesvatn(ÖV5)	AAAA A
Sjóbleikja:		
	Hítará(HÁ2)	AA A A? A
	Hítará(HÁ5)	AAA A A? A
	Hítará(HÁ8)	A AAA AA
	Vatnsdalsá(VÁ1)	A AA ? AA
	Vatnsdalsá(VÁ2)	A? AAA AAA
	Vatnsdalsá(VÁ3)	AAAAA AAA
	Vatnsdalsá(VÁ4)	AAAAAAAAA
Niðurstöður annarra:		
Jón E. Jónasson (1987):		
	Víðidalsá	A AAA A
	Víðidalsá	A AAA B
	Noregur	A AAA A
	Noregur	A AAB A
Danzmann og fél. (1991):		
	Þingvallavatn	AAAAA AAAO
	Þingvallavatn(LB)	ABAAA AAAO
Grewe og fél. (1990):		
	Cumbria, England	AAAAAAAAAAO
	Maine	AAAAAAAAAAO

Tafla II: Skerðibrigði eða haplótýpur einstakra laxa fyrir öll sexbasa ensím. Skerðimunstur ensímanna eru gefin í eftirfarandi röð: 1) *Bam*H I, 2) *Bcl* I, 3) *Bgl* II, 4) *Eco*R I, 5) *Hind* III, 6) *Pst* I, 7) *Pvu* II, 8) *Sal* I, 9) *Xba* I og 10) *Xho* I. Taflan sýnir einnig niðurstöður Bermingham og fél. (1991) og í því tilfelli skerðibrigði ensíma sem eru þau sömu og okkar.

	Staður:	Skerðibrigði:
Lax:	Hraunfjörður(HF1)	CCCCCCCCC
	Hraunfjörður(HF2)	CCCCCCCCC
	Hraunfjörður(HF3)	CCCCCCCCC
	Hraunfjörður(HF4)	CCÐCCCC C
	Laxá í Aðaldal(LA1)	CCC CCC? CC
	Laxá í Aðaldal(LA2)	CCCCCC CC
	Lárós(LÓ1)	CCCCCCCCC
	Lárós(LÓ4)	C CC CC
	Lárós(LÓ5)	CCCCCC CC
	Lárós(LÓ6)	CCCC CCCC
	Lárós(LÓ7)	CCCCCCCCC
	Straumfjarðará(SF1)	CCCCCCCCC
	Norskur eldislax frá Lóni(NO2)	C CCCCCC
Bermingham og fél. (1991):	N-Ameríka:	CCDCCCCC
	Evrópa:	CCCCCC CC

við athuganir Grewe og fél. (1990). Aðskilnaður milli þessarra systurtegunda reyndist vera um 1,9% metið út frá skerðisætum 13 ensíma.

3.2 Lax

Hvatbera DNA þrettán laxa frá fjórum svæðum var skoðað, sjá töflu II. Eitt munstur (Ð) hjá HF4 reyndist frábrugðið við skerðingu *Bgl* II, þar greindist eitt 15,0 kb band í stað 16,5 kb, sjá töflu IV. Að öðru leyti greindist enginn breytileiki. *Mlu* I skerðimunstur greindist hjá HF2. Átta laxar (HF1, HF2, LÓ1, LÓ2, LÓ7, SF1, NO1, NO2) voru einnig klipptir með fjögrabasa ensíminu *Msp* I og voru allir með sama skerðimunstur (tafla V). Fjöldi basa sem var skoðaður með sexbasa ensímum innan einstaklings var 150. Meðallengd litningsins var metin $16,55 \pm 0,09$.

3.2.1 Samanburður við athuganir annarra

Birmingham og fél. (1991) hafa kortlagt skerðisæti 20 sexbasaensíma á litningnum. Þeir fundu 47 skerðisæti hjá amerískum löxum og þrjú til viðbótar hjá þeim evrópsku. Meðal fiska frá hvorri álfu fannst hinsvegar enginn breytileiki. Skerðing *Bgl II* er áhugaverð þar sem hún greinir á milli amerískra og evrópskra laxa. Niðurstöður þeirra voru að ameríska munstrið sé með eitt 16,8 kb band en það evrópska (og þar á meðal lax frá Vogalaxi) sé með tvö bönd: 16,0 og 0,8 kb. Þessu kemur ekki alveg saman við niðurstöður okkar né annarra sem greina frá minni bút en 16,0 (Gyllensten og Wilson 1987; Palva og fél. 1989). Birt og fél. (1986, 1991) og Davidson og fél. (1989) hafa greint frá þessum tveimur munstrum á Nýfundnalandi. Það eru tvær mismunandi skýringar á okkar niðurstöðum. i) C munstrið okkar sé það ameríska og D munstur sé það evrópska en hafi verið vanmetið. ii) C munstrið sé það evrópska og D sé nýtt munstur.

Knox og Verspoor (1991) athuguðu skerðimunstur fjöggra-, fimm- og sexbasa skerðiensíma meðal norskra eldislaxa og laxa í ám á Skotlandi. Breytileiki greindist meðal skerðimunstra fjöggra- og fimmbasa ensímanna innan Skotlands og einnig sexbasa ensímans *Ava I. Hae III* er polymorfískt og virðist duga til að greina á milli norsku og skosku laxanna. Athuganir á finnskum og enskum stofnum hafa einnig greint svipaðan breytileika með *Hae III*. (Palva og fél. 1989; Hovey og fél. 1989).

Tafla III: Skerðibrigði eða haplótýpur einstakra urriða fyrir öll sexbasa ensím. Skerðimunstur ensímanna er gefin í eftirfarandi röð: 1) *Bam*H I, 2) *Bcl* I, 3) *Bgl* II, 4) *Eco*R I, 5) *Hind* III, 6) *Pst* I, 7) *Pvu* II, 8) *Sal* I, 9) *Xba* I og 10) *Xho* I. Taflan sýnir einnig niðurstöður Berg og Ferris (1984) og í því tilfelli skerðibrigði ensíma sem eru þau sömu og okkar.

	Staður:	Skerðibrigði:
Urriði:	Tungulækur(S37)	EEEEEEEEEE
	Tungulækur(S38)	EEEEEEEEEE
	Tungulækur(S39)	EEEEEEEEEE
	Tungulækur(S40)	EEEEEEEEEE
Berg og Ferris (1984)	Kalifornía	E EEEEE E

3.3 Urriði

Meðal urriðanna fjöggra sem allir voru frá Tungulæk greindist aðeins eitt munstur, sjá töflu III og töflu IV. Skerðimunstur *Msp* I í töflu V er aðeins þekkt hjá einum fiski (S40). Klipping og merking (sjá framkvæmdalýsingu hér að framan og Einar Árnason og fél. 1992) gekk vel að því undanskildu að klipping með *Eco*R I hefur líklega ekki náðst að ljúka að fullu þar eð summa allra banda var mun meiri en lengd litningsins.. Bönd sem greindust við *Eco*R I klippingu voru: 12,5 kb, 8,75 kb, 8,1 kb og 4,1 kb. 4,1 kb bandið er að öllum líkindum tvíband¹. Í S37 sáust aðeins 8,75 og 4,1 kb böndin. Það má teljast líklegt að 8,1 kb bandið klippist í tvö jafnstór bönd. Fjöldi basa sem var skoðaður innan einstaklings með sexbasa ensímum var 138. Meðallengd litningsins reiknaðist $16,6 \pm 0,19$.

3.3.1 Samanburður við athuganir annarra

Niðurstöður Berg og Ferris (1984) sem byggðu á skerðibútagreiningu á tveim urriðum frá eldisstöðvum í Kaliforníu eru að mestu leyti þær sömu og okkar, fyrir þau sjö ensím sem voru sameiginleg rannsóknunum. Munur milli þessara niðurstaðna stafar sennilega af skekkju í stærðarmati. Nítján skerðisæti eða 114 basar eru þá eins meðal þessarra fiska. Skerðimunstur *Xba* I er þó hugsanlega frábrugðið. Mat þeirra er 7,280 kb, 3,150 kb, 3,080 kb og 2,210 kb, hér gæti munurinn þó einnig verið vegna vanmats á lengd bútanna, en summa þessarra búta er ekki nema 15,720 kb.

¹Tvíband er þegar tvö bönd af svipaðri stærð ná ekki að greinast í sundur við rafrátt, þessi bönd mynda dekkri bönd í geislamyndatöku eða greinast sem tvö við lengri rafrátt

Tafla IV: Skerðimunstur sexbasa ensíma hjá bleikju, laxi og urriða. Stærð skerðibúta í bösum er gefin fyrir hvert ensím. A er algengara munstrið. []: tvíband, (): líkleg stærð.

ensím	bleikja		lax		urriði
	A	B	A	B	A
<i>Bam</i> H I	15 500		-		-
	-		9 800		-
	-		6 700		-
	-		-		6 400
	-		-		5 250
	-		-		4 200
	1 250		-		-
<i>Bcl</i> I	-		16 500		16 500
	8 200		-		-
	7 800		-		-
	1 000		-		-
<i>Bgl</i> II	-		16 500	15 000	16 500
	11 600		-	-	-
	6 200		-	-	-
	-		-	(1 500)	-
<i>Eco</i> R I	8 750		-		8 750
	8 100		8 100		-
	-		5 000		-
	-		4 100		[4 100]
<i>Hind</i> III	-		8 800		8 800
	5 100		-		-
	-		4 300		-
	3 950		-		-
	3 600		3 600		3 600
	2 350		-		2 350
	1 780		-		1 780
<i>Mlu</i> I	16 500		16 500		16 500
<i>Pst</i> I	16 500		-		-
	-		13 800		13 800
	-		3 800		3 800
<i>Pvu</i> II	-	-	-		13 500
	8 300		-		-
	-	7 900	-		-
	-	-	7 000		-
	6 500		-		-
	-	4 600	-		-
	-	-	-		4 000
	-	-	3 550		-
	-	-	2 700		-
	-	-	2 600		-
	1 400	1 400	(1 400)		-
	-	1 300	-		-
	1 000	-	-		-
<i>Sal</i> I	16 500		16 500		16 500
<i>Xba</i> I	13 000		-		-
	-		-		7 400
	-		4 950		-
	-		3 700		3 700
	3 400		3 400		3 400
	-		[2 300]		2 300
<i>Xho</i> I	16 500		16 500		16 500

Tafla V: Skerðimunstur mtDNA bleikju, laxa og urriða með fjögrabasa ensíminu *Msp* I. Stærð skerðibúta er gefin í fjölda basa.

ensím	bleikja	lax	urriði
	A	A	A
<i>Msp</i> I	-	1 550	-
	-	1 500	-
	-	-	1 450
	1 400	-	1 400
	-	-	-
	-	1 250	1 250
	-	1 080	1 080
	1 020	-	-
	950	950	-
	880	880	-
	780	780	-
	-	-	680
	-	-	650
	620	620	-
	-	-	-
	-	-	-
	470	470	470
	420	420	-
	-	380	-

3.4 Samanburður á skerðimunstrum tegundanna

Lágmarksfjöldi stökkbreytinga sem duga til að skýra mun milli munstra þessara þriggja tegunda má telja með greiningu framangreindra gagna, sjá töflu VI.

Mynd 1 sýnir hvar ætla má að stökkbreytingar milli munstranna liggi, þegar lágmarksfjöldi stökkbreytinga er talinn. Í skerðimunstri *BamH I* þarf fjórar stökkbreytingar til að skýra muninn á milli munstranna. Þessi tengsl eru óljós en sú skýring sem krefst fæstra stökkbreytinga er að 15,5 kb og 1,25 kb bönd bleikju samsvari einu bandi (*BamH Ia*) sem klippist niður í 9,8 og 6,7 kb bönd laxa (*BamH Ib*). 9,8 kb bandið samsvarar 5,25 kb og 4,2 kb bönd í urriða (*BamH Ic*) og 6,7 kb bandið samsvarar 6,4 kb bandi og væntanlega 300 basa nút sem greinist ekki í urriða (*BamH Id*). Við *Bcl I* skerðingu er aðeins eitt skerðisæti hjá laxi og urriða en munstur bleikju má skýra með tveimur skerðisætum og því að tvær stökkbreytingar séu á milli bleikju annarsvegar og lax og urriða hinsvegar. Svipað má sjá við skerðingu *Bgl II* en þar er bleikjumunstrið með eina stökkbreytingu frá lax og urriða. *EcoR I* skerðimunstrin má skýra með tveim breytingum: 8,75 kb band bleikju og urriða samsvara tveim böndum (5,1 kb og 4,1 kb) í laxi (stökkbreyting *EcoR Ia*) og 8,1 kb band bleikju og lax myndar tvö bönd um 4,1 kb að lengd í urriða (*EcoR Ib*). *Hind III* skerðimunstur má skýra með tveim breytingum: 5,1 kb og 3,95 kb bönd bleikju mynda eitt 8,8 kb band í laxi og urriða (stökkbreyting *Hind IIIa*) og 2,35 kb og 1,78kb bönd bleikju og urriða mynda eitt 4,3 kb band í laxi (*Hind IIIb*). *Mlu I* hefur aðeins eitt skerðisæti hjá öllum þrem tegundunum. *Pst I* skerðimunstrin má skýra með einni stökkbreytingu. Aðeins eitt skerðisæti sem gefur 16,5 kb band er í bleikju en tvö jafnstór bönd greinast hjá laxi og urriða. Við skerðingu með *Pvu II* er líklegt að við höfum ofmetið lengd litningsins, ef miðað er við meðallengd hans og kortlagningu skerðisætanna í laxinum (Birmingham og fél. 1991). Áhrif þessa mats gerir allan samanburð á milli munstra erfiðari en frávika gætir einna mest á stærri böndum, óvissan er meiri í mati á stærri böndum. Fimm stökkbreytingar, a.m.k., þarf til að skýra mun á skerðimunstrum þessara þriggja tegunda. 13,5 kb band urriða samsvarar 7,0 kb, 3,55 kb og 2,7 kb böndum hjá laxi (*Pvu IIa* og *e*). 4 kb band urriða er í tveim böndum hjá laxi 2,6 kb og 1,4 kb (*Pvu II d*). *Pvu IIe* og *d* greina einnig urriða og bleikju að og *Pvu IIa* greinir lax frá bleikju en tvær breytingar þarf til viðbótar til að skýra tengsl bleikju við hinar tegundirnar. Þannig samsvarar 13,5 kb band urriða 6,5 kb bandi og að stærstum hluta 8,3 kb bandi í bleikju (*Pvu IIe*) og 4,0 kb band urriða samsvarar 1,4 og 1,0 kb böndum og hluta af 8,3 kb bandinu í bleikju. Þennan mun má rekja til tveggja breytinga: *Pvu IIb* og *c*. *Pvu IIb* veldur því að skerðisæti sem aðgreinir 4,0 kb og 13,5 kb bönd urriða er ekki skerðisæti í bleikju. *Pvu IIc* er hinsvegar skerðisæti í bleikju á svæði sem samsvarar 4,0 kb bandi urriða. Mun milli bleikju og lax má skýra þannig að 3,55 kb og 2,7 kb bönd í laxi sé eitt band (6,5 kb)² í bleikju (stökkbreyting *Pvu IIa*). 7,0 kb og

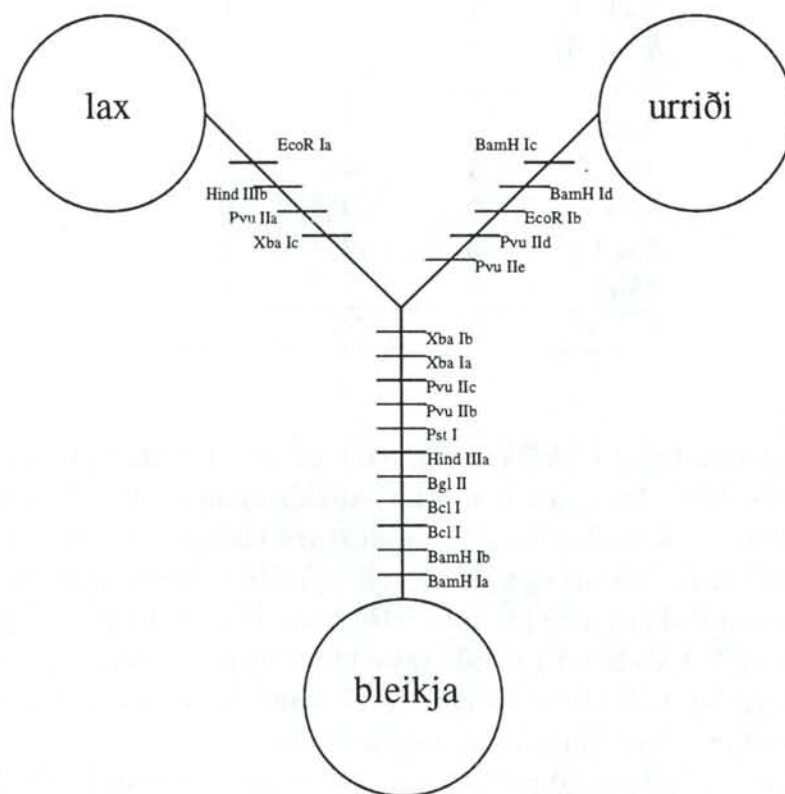
²Grewe og fél. (1990) mátu lengd þessa bands sem 6,1 kb.

Tafla VI: Lágmarksfjöldi stökkbreytinga á milli skerðimunstra hverra tveggja tegunda fyrir hvert sexbasa ensím. Heildarfjöldi stökkbreytinga er talinn og munur milli tegunda (fjöldi stökkbreytinga á móti fjölda basa) er gefinn í prósentum. Upphafstafir fiskanna eru notaðir til að gefa til kynna hvaða tegundir er verið að bera saman, t.d. B & L: Bleikja og Lax.

Ensím:	B & L	B & U	L & U
<i>Bam</i> H I	2	2	2
<i>Bcl</i> I	1	0	0
<i>Bgl</i> II	1	1	0
<i>Eco</i> R I	1	2	1
<i>Hind</i> III	2	1	1
<i>Mlu</i> I	0	0	0
<i>Pst</i> I	1	1	0
<i>Pvu</i> II	3	4	3
<i>Sal</i> I	0	0	0
<i>Xba</i> I	3	2	1
<i>Xho</i> I	0	0	0
Σ	14	13	8

2,6 kb í laxi sé eitt band í bleikju (*Pvu* IIb) en um 1.0 kb styttra vegna nýs skerðisætis (*Pvu* IIc). Það þarf því þrjár stökkbreytingar til að skýra mun á þessum munstrum. Á milli *Pvu* skerðimunsturs bleikju og urriða þarf fjórar breytingar. *Sal* I hefur aðeins eitt skerðisæti hjá öllum þrem tegundunum. *Xba* I skerðimunstrin má skýra með þrem breytingum. 13,0 kb band bleikju myndar 7,4 kb, 3,7 kb og 2,3 kb bönd í urriða (stökkbreytingar *Xba* Ia og b) og 7,4 kb band urriða myndar 4,95 kb og annað 2,3 kb band laxa (*Xba* Ic). *Xho* I hefur aðeins eitt skerðisæti hjá öllum þrem tegundunum.

Til að reikna erfðafjarlægð milli þessara tegunda er talinn fjöldi skerðisæta og sameiginlegur fjöldi skerðisæta á milli tveggja tegunda, sjá töflu VII. Talning sameiginlegra skerðisæta byggir á ofangreindum rökum á því hvernig tengja megi munstrin og stuðst er við kortlagningu Berminghams og fél. (1991) á skerðisætunum í laxi. Samkvæmt niðurstöðum á skerðibútagreiningu með sexbasa ensímum eru fjarlægðirnar milli bleikju og lax: 6,12 %, bleikju og urriða: 6,44 % og lax og urriða: 3,05 %.



Mynd 1: Stökkbreytingar á milli skerðimunstra bleikju, lax og urriða.

Tafla VII: Fjöldi skerðisæta hvers sexbasa ensíms hjá hverri tegund og fjöldi sameiginlegra sæta í samanburði milli tveggja tegunda. m_B : fjöldi skerðisæta hjá bleikju, m_L : fjöldi skerðisæta hjá laxi, m_U : fjöldi skerðisæta hjá urriða, m_{BL} : fjöldi sameiginlegra skerðisæta hjá bleikju og laxi, o.s.frv..

	skerðisæti:			sameiginleg skerðisæti:		
	m_B	m_L	m_U	m_{BL}	m_{BU}	m_{LU}
<i>Bam</i> H I	2	2	3	1	1	2
<i>Bcl</i> I	3	1	1	1	1	1
<i>Bgl</i> II	2	1	1	1	1	1
<i>Eco</i> R I	2	3	3	2	2	2
<i>Hind</i> III	5	3	4	3	4	3
<i>Mlu</i> I	1	1	1	1	1	1
<i>Pst</i> I	1	2	2	1	1	2
<i>Pvu</i> II	4	5	2	3	1	2
<i>Sal</i> I	1	1	1	1	1	1
<i>Xba</i> I	2	5	4	2	2	4
<i>Xho</i> I	1	1	1	1	1	1
Σ	24	25	23	17	16	20

4 Umræður

Helstu niðurstöður okkar greiningar eru að lítil breytileiki fannst innan tegunda með þeim sexbasa ensímum sem við notuðum. Breytileikinn er það lítil að ekki er unnt að beita neinni tölulegri aðferð til að greina mun milli stofna eða athuga spurningar um genaflæði. Eitt ensím, *Pvu* II, gaf í okkar athugun einkennandi skerðimunstur fyrir bleikjur úr Skorradalsvatni. Þetta munstur er að öllum líkindum það sama og Jón E. Jónasson (1987) greindi hjá bleikju úr Víðidalsá. Danzmann og fél. (1991) funduekkert skerðisæti með *Mlu* I og *Xho* I hjá Þingvallengeikjum og fullyrða að þar sé ekki skerðisæti til staðar. Hjá okkur greindist eitt skerðisæti meðal sex bleikja frá fjórum stöðum með *Mlu* I. *Xho* I gaf einnig eina skerðingu hjá okkur. Skýra má þennan mun á tvo vegu, í fyrsta lagi að klipping og merking hafi ekki tekist, og í öðru lagi að sætið sé ekki til staðar (og því munur milli hópa). Þetta var ekki kannað frekar.

Með því að bera niðurstöður okkar saman við niðurstöður annarra náum við að gera samanburð milli fleiri einstaklinga og athuga breytileika í skerðimunstrum þessarra ensíma yfir stærri landssvæði. Samanburðurinn leiðir í ljós að sá skortur á breytileika sem við greinum hér innanlands nær einnig yfir stærri svæði. Bermingham og fél. (1991) greina frá að í laxi megi greina tvo megin stofna: evrópskan og amerískan, sem hafi mismunandi skerðimunstur fjögurra af níttján sexbasaensímum. Eitt fimmbasa ensím (*Ava* II) í þeirra athugun sýndi einnig þennan mun, en það greindi einnig á milli laxa frá Eystrasalti og annarra Evrópulanda. Segja má að notkun sexbasa ensíma til að meta breytileika hjá þessum tegundum dugi til að greina á milli mtDNA lína sem hafa aðgreinst fyrir lengri tíma en staðbundnir stofnar innan landa. Þannig reynast þau vel í samanburði á milli tegundanna. Niðurstöður okkar eru áþekkar niðurstöðum annarra (sjá t.d. Grewe og fél. 1990). Til að greina mun milli staðbundinna stofna innan tegunda á sama landsvæði þarf hinsvegar að skoða stærra svæði af litningnum. Það væri hægt að gera með því að klippa með fleiri sexbasa ensímum eða nota fimm- og fjögrabasa ensím, en þau ná að klippa á fleiri stöðum en sex basa ensím og heildarfjöldi basa sem er skoðaður er því fleiri. Í bleikju hafa greinst þrjú breytileg skerðimunstur með fimm- og fjögrabasa ensímum *Acc* I, *Ava* I og *Hinf* I (Danzmann og fél. 1991). Knox og Verspoor (1991) greindu breytileg munstur hjá lögum með einu af þrettán sexbasa ensímum, tveimur af þremur fimmbasa ensímum og þremur af sex fjögrabasa ensímum.³

Skerðing með fjögrabasa ensímum er þó ekki vænlegasta leiðin til að greina breytileika. Vegna fleiri skerðisæta fjögrabasa ensíma en sexbasa ensíma myndast fleiri bútar við fjögrabasaskerðingu og margir þeirra eru því smáir og af svipaðri stærð. Af þessu leiðir að erfiðara er að rekja mun milli munstra, bútar

³Þessi flokkun er frábrugðin þeirra flokkun á hvað sé sex-, fimm- og fjögrabasa ensím, sem er ekki alveg rétt. Þeir flokka fimmbasa ensímin *Ava* I og *Hinc* II sem sexbasa ensím og fjögrabasa ensímin *Hinf* I og *Dde* sem fimmbasa ensím og telja því meiri breytileika vera til staðar en gögnin gefa til kynna.

af sömu stærð í tveim munstrum gætu verið af mismunandi stöðum í litningnum, og því ekki eins vegna sameiginlegs uppruna. Einnig eru vissir annmarkar við túlkun á niðurstöðum skerðibútagreiningar almennt (Dowling og fél. 1990, Swofford og Olsen 1990). Þar má nefna að metylering getur haft áhrif á hvort að skerðing tekst, að ein breyting (t.d. viðsnúningur eða innskot/úrfelling) getur valdið því að fleiri en ein breyting sé talin. Líklegra er að skerðisæti tapist frekar en að það sama verði til, það dugir að einn basi í sæti breytist til að skerðisæti glatast, en til að það sama ávinnist þarf basi í sama sæti að breytast og þá í þann eina ákveðna basa sem skerðiensímið þekkir. Bönd geta verið jafn stór þrátt fyrir mismunandi uppruna. Ef skerðisæti eru ekki þekkt eru eiginleikar ekki óháðir, en krafa um óháða eiginleika er lögð til grundvallar í greiningu á þróunarsögu. Dæmi um þetta er þegar nýtt skerðisæti verður til milli tveggja skerðisæta, þannig að eitt band klippist í tvennt og tvö bönd myndast. Með samanburði sem byggir á fjölda sameiginlegra banda eiga þessir einstaklingar ekkert sameiginlegt þrátt fyrir að tvö af þremur skerðisætum þeirra séu eins. Hinsvegar hefur verið bent á að með auknum fjölda skerðiensíma jafnist þetta út (Swofford og Olsen 1990).

Önnur, nýrri og æskilegri leið til að greina breytileika mtDNA er raðgreining. Helstu kosti raðgreiningar má nefna t.d. að: *a)* hægt er að velja svæði sem breytast hratt *b)* auðveldara er að skoða fleiri basa, *c)* ekki er hægt að fá nánari upplýsingar um skyldleika en frá basaröðinni og *d)* betra er að bera saman niðurstöður mismunandi rannsókna.

Í raðgreiningu á 295 basapararöð í cytochrome *b* geni mtDNA í löxum greindu McVeigh og fél. (1991) þrjár raðir með einni breytingu á milli raða. Tvær raðir greindust hjá amerískum löxum og ein meðal evrópskra laxa. McVeigh og fél. (1991) greindu mest 5,4 % mun milli cytochrome *b* raða urriða og laxa en aðeins 4,8 % mun milli algengustu munstra hvorrar tegundar. Í okkar skerðibútagreiningu var fjarlægðin 3,0 %. Í okkar raðgreiningu á cytochrome *b* geninu hjá íslenskum laxfiskum (Snæbjörn Pálsson og Einar Árnason, óbirtar niðurstöður) fékkst einnig 4,8 % munur á laxi og urriða 10,4 % munur milli raða í bleikju og laxi og 8,7 % munur milli bleikju og urriða. Fjarlægðir voru reiknaðar samkvæmt Swofford og Olsen (1990) og leiðréttar með hlutfalli basa. Þetta eru ívið meiri fjarlægðir en fengust úr skerðibútagreiningunni. Það virðist því vera að breytileikinn í cytochrome *b* geninu sé meiri en meðalbreytileiki litningsins. Bernatchez og fél. (1992) raðgreindu hjá urriða víðsvegar frá Evrópu hluta af stýrisvæði litningsins, *D*-lykkjuna, en hún er talin sýna einna mestan breytileika meðal hryggdýra. Munur milli þessara raða hjá urriða og laxi er 5,44 – 6,44 %. Breytileiki þessara raða er því aðeins meiri en í cytochrome *b* geninu. Helstu niðurstöður Bernatchez og félaga eru að mtDNA urriða skiptist í fimm megin flokka sem hafa skýra landfræðilega dreifingu. Við Miðjarðarhaf er að finna fjórar mismunandi gerðir af mtDNA en í vestanverðri Evrópu, (í vatnasvæði sem liggur að Atlantshafi, Norðursjó og Eystrasalti) greindu þeir engan breytileika í *D*-lykkjunni þrátt fyrir að urriðar á þessu svæði hafa mismunandi

lífssögu og svipfar. Þetta er athyglisvert bæði með tilliti til svipfarsþróunar og fars milli þessarra svæða. Það virðist því sem urriðinn hafi greinst í mismunandi hópa vel fyrir síðasta kuldaskið ísaldar og lítill samgangur hafi verið milli þessarra hópa. MtDNA hefur ekki borist á milli einstaklinga úr þessum hópum. Urriði við Atlantshaf virðist því hafa numið land í eitt skipti og aðgreinst síðar í mismunandi svipfarsgerðir á endurtekinn hátt, sem hafa verið kallaðar tegundir eða systurtegundir. Þessi hópur hefur síðan breiðst út um norðanverða Evrópu eftir lok síðasta kuldaskiðs ísaldar. Þessi gögn útiloka hinsvegar ekki að norðvestanverð Evrópa hafi verið numin einnig af öðrum stofni þar eð þau ná ekki til þess svæðis, en slíkar kenningar sem byggja á prótein breytileika hafa verið settar fram (Hamilton og fél. 1989, Bernatchez og fél. 1992).

Ef sú einsleitni sem við greinum meðal mtDNA laxfiska hérlendis er í raun rétt mynd af breytileika mtDNA þeirra eru það engu að síður áhugaverðar niðurstöður. Af því má álykta að sú svipfarsaðgreining sem er meðal þessarra fiska hafi átt sér stað á styttri tíma en vænta má breytinga í mtDNA. Þar sem mtDNA þróast almennt hraðar en kjarna DNA er þetta því merki um hraða þróun og endurteknar aðlaganir eða sveigjanleika í þroskun svipfarsins.

5 Heimildir

- Allendorf, F., N. Ryman, og F. Utter 1987. Genetics and fishery management: past, present, and future. Í *Population Genetics & Fishery Management*, N. Ryman og F. Utter ritstj., University of Washington Press, Seattle, Washington.
- Árnason, Einar, Snæbjörn Pálsson, Aðalgeir Arason og Vilhjálmur Þorsteinsson 1992a. Stofngerð þorsks (*Gadus morhua*) við Ísland og víðar metin með breytileika í DNA orkukorna (mtDNA). Líffræðistofnun Háskólans, rit 33. Reykjavík.
- Árnason, E., S. Pálson og A. Arason 1992b. Gene flow and lack of population differentiation in Atlantic cod, *Gadus morhua*, from Iceland, and comparisons of cod from Norway and Newfoundland. *Journal of Fish Biology* 40:751–770..
- Avise, J. C. (1989). Gene trees and organismal histories: A phylogenetic approach to population biology. *Evolution* 43:1192–1208.
- Avise, J. C. 1990. Flocks of African Fishes. *Nature* 347:512–513.
- Avise, J. C. 1992. Molecular population structure and the biogeographic history of a regional fauna: a case history with lessons for conservation biology. *Oikos* 63:62–76.
- Avise, J. C., C. A. Reeb og N. C. Saunders 1987a. Geographic population structure and species differences in mitochondrial DNA of mouthbrooding marine catfishes (Ariidae) and demersal spawning toadfishes (Batrachoididae). *Evolution* 41:991–1002.
- Avise J. C., J. Arnold, R. M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J. E. Neigel, C. A. Reeb, og N. C. Saunders 1987b. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18:489–522.
- Behnke R. J. 1972. The systematics of salmonid fishes of recently glaciated lakes. *Journal of Fisheries Board of Canada*, 29:639–671.
- Behnke R. J. 1986. Brown trout. *Trout*, 27:42–47.
- Berg J. W. og Ferris S. D. 1984. Restriction Endonuclease Analysis of Salmonid Mitochondrial DNA. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 41:1041–1047.
- Bermingham E. og J. C. Avise 1986. Molecular zoogeography of freshwater fishes in the southeastern United States. *Genetics* 113:939–965.
- Bermingham E., Forbes, S. H., Friedland K. og Pla C. 1991. Discrimination between Atlantic Salmon (*Salmo salar*) of North American and European Origin using Restriction Analysis of Mitochondrial DNA. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48:884–893.

- Bernatchez L., Guyomard R. og Bonhomme F. 1992. DNA sequence variation of the mitochondrial control region among geographically and morphologically remote European brown trout *Salmo trutta* populations. *Molecular Ecology*, 1:161-173.
- Birnboim H. C. og J. Doly 1979. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Research* 7:1513-1523.
- Birt T. M., Green J. M. og Davidson, W. S. 1986. Analysis of mitochondrial DNA in allopatric anadromous and nonanadromous Atlantic salmon, *Salmo Salar*. *Canadian Journal of Zoology*, 64:118-120.
- Birt T. M., Green J. M. og Davidson, W. S. 1991. Mitochondrial DNA variation reveals genetically distinct sympatric populations of anadromous and nonanadromous Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 48:000-000.
- Danzmann R. G., Ferguson M. M., Skúlason S., Snorrason S. S., og Noakes D. L. G. 1991. Mitochondrial DNA diversity among four sympatric morphs of arctic charr, *Salvelinus alpinus*, from Þingvallavatn, Iceland. *Journal of Fish Biology* 39:649-659.
- Davidson W. S., Birt T. P. og Green J. M. 1989. Organisation of the mitochondrial genome from Atlantic salmon *Salmo salar*. *Genome* 32:340-342.
- Dowling T. E., Moritz C., og Palmer J. 1990. *Nucleic Acids II: Restriction Site Analysis*. Í *Molecular Systematics* ritstj. af Hillis D. M. og Moritz C.. Sinauer Associates Inc.
- Grewe P. M., Billington N. og Hebert P. D. N. 1990. Phylogenetic relationship among members of *Salvelinus* inferred from mitochondrial DNA divergence. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47:984-991.
- Guðjónsson Sigurður 1988. Erfðafræðilegur grundvöllur fiskeldis og fiskiræktar. *Eldisfréttir* 1:10-14.
- Guðjónsson Sigurður 1990. Classification of Icelandic watersheds and rivers to explain life history strategies of Atlantic salmon. Ph.D. thesis. Oregon State University. Corvallis.
- Gyllensten U. og Wilson A.C. 1987. Mitochondrial DNA of salmonids: inter and intraspecific variability detected with restriction enzymes. Í *Population Genetics & Fishery Management*, N. Ryman og F. Utter ritstj., University of Washington Press, Seattle, Washington.
- Hamilton K.E., Ferguson A., Taggart J.B., Tómasson T., Walker A. og Fahy E. 1989. Post-glacial colonization of brown trout, *Salmo trutta* L.: *Ldh-5* as a phylogeographic marker locus. *Journal of Fish Biology*, 35:651-664.
- Harvey P. H. og Pagel M. D. 1991. *The Comparative Method in Evolutionary*

- Biology*, Oxford University Press, New York.
- Hovey, S. J., Thompson D. og Scott A. 1989. Mitochondrial DNA and allozyme analysis of Atlantic Salmon, *Salmo salar*, in England and Wales. *Journal of Fish Biology*, 35(Suppl. A):253–260).
- Jónasson, Jón Erlingur 1987. Characterization of mitochondrial DNA in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). Master thesis (cand. scient.). University of Oslo.
- Knox D. og Verspoor E. 1991. A mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphism of potential use for discrimination of farmed Norwegian and wild Atlantic salmon populations in Scotland. *Aquaculture*, 98:249–257.
- McVeigh H. P., Bartlett S. E. og Davidson W. S. 1991. Polymerase chain reaction/direct sequence analysis of the cytochrome b gen in *Salmo salar*. *Aquaculture* 95:225–233.
- Meyer, A., T. D. Kocher, P. Basasibwaki, og A. C. Wilson 1990. Monophyletic origin of Lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences. *Nature* 347:550–553.
- Moritz, C., T. E. Dowling, og W. M. Brown 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18:269–292.
- Nei, M. og W. Li 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA* 76:5269–5273.
- Noakes D. L. G., Skúlason S. og Snorrason S. S. 1989. Alternative life-history styles in salmonine fishes with emphasis on arctic charr, *Salvelinus alpinus*. Í *Alternative Life-History Styles of Animals*, ritstýrt af Bruton M. N.. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands, bls. 329–346.
- Palva, T. K. og E. T. Palva 1985. Rapid isolation of animal mitochondrial DNA by alkaline extraction. *Federation of European Biochemical Societies*, 192:267–270.
- Palva, T. K., Lehvaslaiho H. og Palva E. T. 1989 Identification of anadromous and nonanadromous salmon stocks in Finland by mitochondrial DNA analysis. *Aquaculture*, 81:237–244.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F. og Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning*. 2. útg. Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, New York.
- Scarnecchia D. L. 1983. Age of sexual maturity in Icelandic stocks of Atlantic salmon *Salmo salar*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40:1456–1468.
- Sigurðsson, Friðrik 1988. Eru náttúrulegir laxastofnar í hættu? *Eldisfréttir* 1:16–17.

- Skúlason, Skúli 1990. Variation in morphology, life history and behaviour among sympatric morphs of arctic charr: an experimental approach. Ph.D. thesis, University of Guelph. Kanada.
- Skúlason, Skúli, Þórólfur Antonsson, Guðni Guðbergsson, Hilmar J. Malmquist og Sigurður S. Snorrason. Variability in Icelandic Arctic charr. Óbirt handrit.
- Snorrason, Sigurður S. 1990. Bleikjan í Þingvallavatni: Niðurstöður rannsókna og hugleiðingar um eðli og tilurð mismunandi afbrigða. Í *Brunnur lifandi vatns*, Háskóli Íslands — Háskólaútgáfa, Reykjavík.
- Swofford, D. L. og Olsen, G. J. (1990). Phylogeny reconstruction. Í *Molecular Systematics*, D. M. Hillis og C. Moritz, ritstj., Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts.
- Tamura, K. og T. Aotsuka 1988. Rapid isolation method of animal mitochondrial DNA by the alkaline lysis procedure. *Biochemical Genetics*, 26:815-819.
- Tómasson, Tumi 1989. Líffræði bleikjunnar. Norðurlandsdeild Veiðimálastofnunar. Hólum í Hjaltadal. 7 bls.