

Ringhorndalen del 2:

# Opprinnelse og postglasial historie av en høy-arktisk oase

– den første vellykkede koloniseringen av Svalbard etter siste istid?



SVALBARDS  
MILJØVERN FOND

Prosjektleder Pernille Bronken Eidesen, UNIS

Masterstudent Linn Voldstad, UNIS

Samarbeidspartnerne og studenter involvert i prosjektet: Inger Greve Alsos, Tromsø Museum, UiT;

Lena Håkansson, UNIS; Wesley Farnsworth, UNIS; Anders Schomacker, UiT; Geir Søli,

Naturhistorisk Museum, UiO; Reidar Elven, Naturhistorisk Museum, UiO; Geir Arnesen, Ecofact;

Kari Klanderud, NMBU; Johannes S. Bolstad, UNIS; Maj Sofie Christensen, UNIS



Foto: Pernille Bronken Eidesen



UiT / NORGES ARKTISKE  
UNIVERSITET

## Innhold

Forord .....	3
Sammendrag .....	4
Bakgrunn .....	4
Metode .....	5
Resultater og diskusjon .....	6
Konklusjon og planer fremover .....	8
Takksigelser .....	8
Referanser .....	8



## Forord

Vi har vært så heldige å få støtte til våre undersøkelser av Ringhorndalen og de omkringliggende områdene via to søknader til Svalbard Miljøvernfond. Hovedmålsettingen med den første søknaden (14/108) var en grundigere kartlegging av biodiversiteten i området med tanke på videre forvaltning, både på arts- og naturtype nivå. Vi gjennomførte blant annet en testkartlegging etter mal for NiN - Natur i Norge. NiN er et type- og beskrivelsessystem for all variasjon i naturen, og veletablert på fastlandsnorge, men fremdeles under utvikling på Svalbard. Denne delen er allerede rapportert grundig i rapporten som allerede er publisert (<https://www.syssemmannen.no/Svalbards-miljoevernfond/Rapportar/kartlegging-av-ringhorndalen/>).

Hovedmålsettingen med den andre søknaden som det rapporteres på her («Ringhorndalen Del 2» 17/57) var å utdype et av delmålene i den første søknaden, som omhandlet vegetasjonshistorien til dette området. Mer spesifikt ønsket vi å vurdere om vegetasjon og fauna i Ringhorndalen representerer restene av en mer varmekjær biota med større utbredelse på Svalbard under varmeperioden etter siste istid, eller har etablert seg nylig. Dette ble gjort via genetiske analyser av arter i området som så ble sammenlignet med genetisk materialet fra andre lokaliteter, samt DNA analyse av en sedimentkjerne fra et vann i munningen av Ringhorndalen, hvor organisk materialet har akkumulert fra slutten på siste istid og frem til i dag.



Studenter på jakt etter ferske sedimentprøver i vannet hvor den analyserte sedimentkjernen er hentet fra. Foto: Pernille Bronken Eidesen

## **Sammendrag**

Indre Wijdefjorden nasjonalpark har en særegen vegetasjon med flere sjeldne plantearter. Dette unike området ble først oppdaget for drøye 15 år siden, og siden har det blitt registrert en rekke nye forekomster av sjeldne arter eller nye arter for Svalbard i dette området, spesielt i Ringhorndalen og i nabadalen Flatøyr dalen. Detaljer rundt dette er grundig rapportert og dokumentert i den første rapporten fra dette prosjektet (14/108), mens vi her kun rapporterer på de historiske analysene; både basert på historiske DNA prøver av en sedimentkjerne fra en innsjø, samt genetiske sammenligninger mellom et utvalg arter fra området og mulige kildeområder. Våre analyser viser at dette området ble kolonisert svært tidlig etter siste istid. Sedimentkjernen undersøkt for historisk DNA viste seg å inneholde det eldste daterte fossile plantematerialet kjent fra Svalbard etter isen trakk seg tilbake. Plantesammensetningen av sedimentkjernen basert på analyser av historisk DNA støtter en mer varmekjær vegetasjon i første halvdel av Holocene. Sekvensanalyser av de to varmekjære bakkestjerneartene i området, *Erigeron uniflorus* og *E. eriocephalus* har så langt ikke gitt nok sekvensvariasjon til å si noe om mulig kildeområde og innvandringsvei av disse artene, mens sekvensanalyse av blokkebær (*Vaccinium uliginosum*) avdekket en ny genetisk haplotype for Svalbard, som tidligere kun er registrert i populasjoner fra Grønland og Canada. Dette tyder på at forfedrene til dagens blokkebær i Ringhorndalen har kommet vestfra.

## **Bakgrunn**

De senere årene er det funnet flere nye arter for Svalbard i området rundt Ringhorndalen, Wijdefjorden, og en rekke nye lokaliteter for sjeldne og rødlistede arter (Elvebakk & Nilsen, 2002; Elvebakk & Nilsen, 2011; Eidesen *et al.*, 2013; Elvebakk & Nilsen, 2016). Etter vår siste registreringer i 2017, inneholder området den største artsrikheten av karplanter registrert i samme området på Svalbard, med hele 124 arter, hvorav mange varmekjære arter, og flere finnes kun her. Tidligere har Colesdalen vært regnet som det mest artsrike området med 89 arter (Alsos *et al.*, 2004).

Det høye artsantallet og artssammensetningen understreker det spesielle klima og de særegne jordbunnsforholdene i dette området, og gjør at dette området kan defineres som en «arktiske hot-spot». Men har dette alltid vært slik, eller har denne hot-spoten oppstått nylig? Et av våre forskningsspørsmål i Ringhorndalprosjektet var knyttet til områdets historie. Vi søkte blant annet svar på følgende spørsmål:

*Representerer vegetasjon i Ringhorndalen kun levninger av en mer varmekjær biota med større utbredelse på Svalbard under varmep perioden etter siste istid, eller har denne unike artssammensetning etablert seg nylig, og muligens som et resultat av dagens klimaendringer?*

Vår arbeidshypotese var at den varmekjære vegetasjonen i Ringhorndalen var restene av en vegetasjon med større utbredelse på Svalbard under varmep perioden etter siste istid (ca. 9000–5000 år siden; Hyvärinen 1970, Birks 1991, Miller *et al.* 2010). For å teste vår hypotese, ble det gjennomført en analyse av historisk DNA fra området, samt at noen arter ble undersøkt i et fylogeografisk rammeverk.

## Metode

### Analyse av enkeltarter

Fylogeografiske metoder betyr at vi undersøker slektskap mellom populasjoner, fortrinnsvis ved molekylærgenetiske metoder. Slike metoder kan vise hvor arter vi i dag finner på Svalbard har hatt sine kildeområder og hvilke vandringsveier de har fulgt til sine nåværende områder. De kan også fortelle om populasjoner har vært isolert over lengre tid. Bakdelen med slike analyser er at vi kun kan ta prøver fra områder hvor arten finnes i dag, og man må ekstrapolere ut i fra det.

Gjennom to studentprosjekter ble det ekstrahert DNA og sekvensert prøver fra totalt tre varmekjære arter; snøbakkestjerne (*Erigeron uniflorus*), ullbakkestjerne (*E. eriocephalus*), og blokkebær (*Vaccinium uliginosum*).

DNA isolering ble gjort ved Qiagen Plant mini kit etter produsentens protokoll, PCR ble gjort etter protokoll som beskrevet i Eidesen et al (2007) med små justeringer, og rensing av PCR produkt ble gjort ved SPRI (DeAngelis et al., 1995). Sekvensering ble gjort ved GATC Biotech AG, Tyskland. For *Erigeron* artene ble to regioner sekvensert; en kloroplastregion (trnL-trnF)(Taberlet et al., 1991) og en nukleær region av rDNA, ITS (Internal transcribed spacers) via primerne ITS-1/ITS-4 (White et al., 1990). For *Vaccinium uliginosum* ble også ITS sekvensert (primere ITS4 /ITS5P)(White et al., 1990; Möller & Cronk, 1997), samt to kloroplastregioner sekvensert (trnL-trnF og trnS/trnG)(Hamilton, 1999).

### Analyse av historisk DNA fra sedimentkjerne

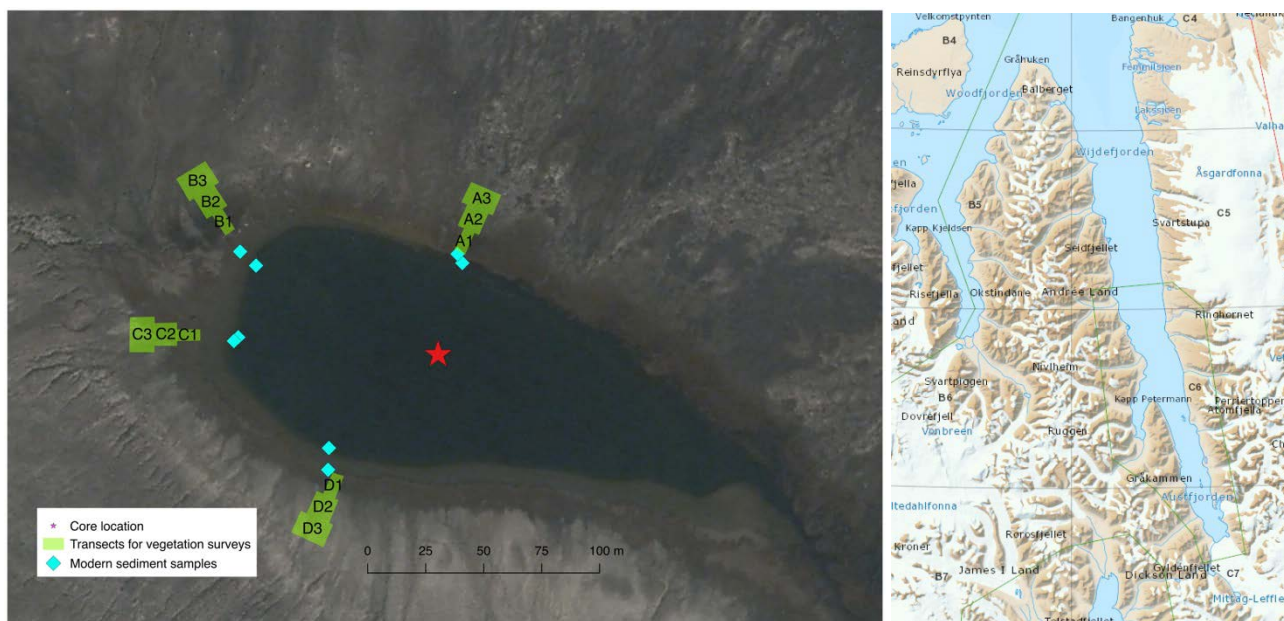
Sommeren 2016 ble det gjort kjerneboringer for klimarekonstruksjon i et av vannene ytterst i Ringhornaldalen via et prosjekt knyttet til avdeling for Arktisk geologi ved UNIS. Vår felles interesse for dette område ga oss et stort potensiale for samarbeid. En av disse kjernene inneholdt mye organisk materiale (Figur 1). Fra denne kjernen ble det samlet DNA prøver fra ulike dybder (dvs. av ulik alder). Disse ble tatt under strenge prosedyrer for å unngå kontaminering på et laboratorium i København. Fossilprøver for datering ble også tatt her.

Prøvene ble så fraktet til Tromsø, og videre behandlet ved et spesialbygget laboratorium ved Tromsø Museum, hvor de har spesialisert seg på analyse av historisk DNA. Herfra og ut hadde vi en masterstudent som hadde hovedansvaret for å jobbe frem dataene. Her ble DNAet fra 48 prøver ekstrahert, og sendt til sekvensering ved et sveitsisk bioteknologi-firma (Fasteris) i Genève. En spesiell DNA-barcode som egner seg for historisk DNA ble benyttet (Taberlet et al. 2006; Boks 1). Sekvensene ble sammenlignet med et referansebibliotek (Sønstebø et al. 2010; Willerslev et al. 2014; Soininen et al. 2015).

#### Boks 1: DNA-barcoding

Barcoding betyr strekkoding. I DNA-barcoding brukes et spesielt gen som en unik merkelapp på hver art. Dette genet kan sammenlignes med strekkoden som dagligvare-forretningene bruker til avlesing av pris på en bestemt varetype ved kassaapparatet: Alle strekkoder har en unik kombinasjon av tykke og tynne streker som apparatet søker opp i en database for å finne prisen som matcher varen. I DNA-barcoding er de tykke og tynne strekene byttet ut med de fire byggesteinene i DNA-molekylet, og databasen matcher denne DNA-koden med en art. En typisk strekkode består av ca 500-1000 par byggesteiner avhengig av hvilken «barcode» man bruker. For historisk DNA, hvor DNAet antas å ha dårligere kvalitet, brukes kortere strekkoder.

Som en kalibrering av metoden, kartla vi i 2017 dagens vegetasjon rundt vannet hvor sedimentkjernen ble tatt for å få en god oversikt over dagens artssammensetning, samt at vi samlet overflatesediment på bunnen av vannet for DNA analyse. Vegetasjonsdataene er presentert, men DNA analysene av de ferske sedimentene var dessverre ikke vellykket, og er derfor ikke presentert videre.



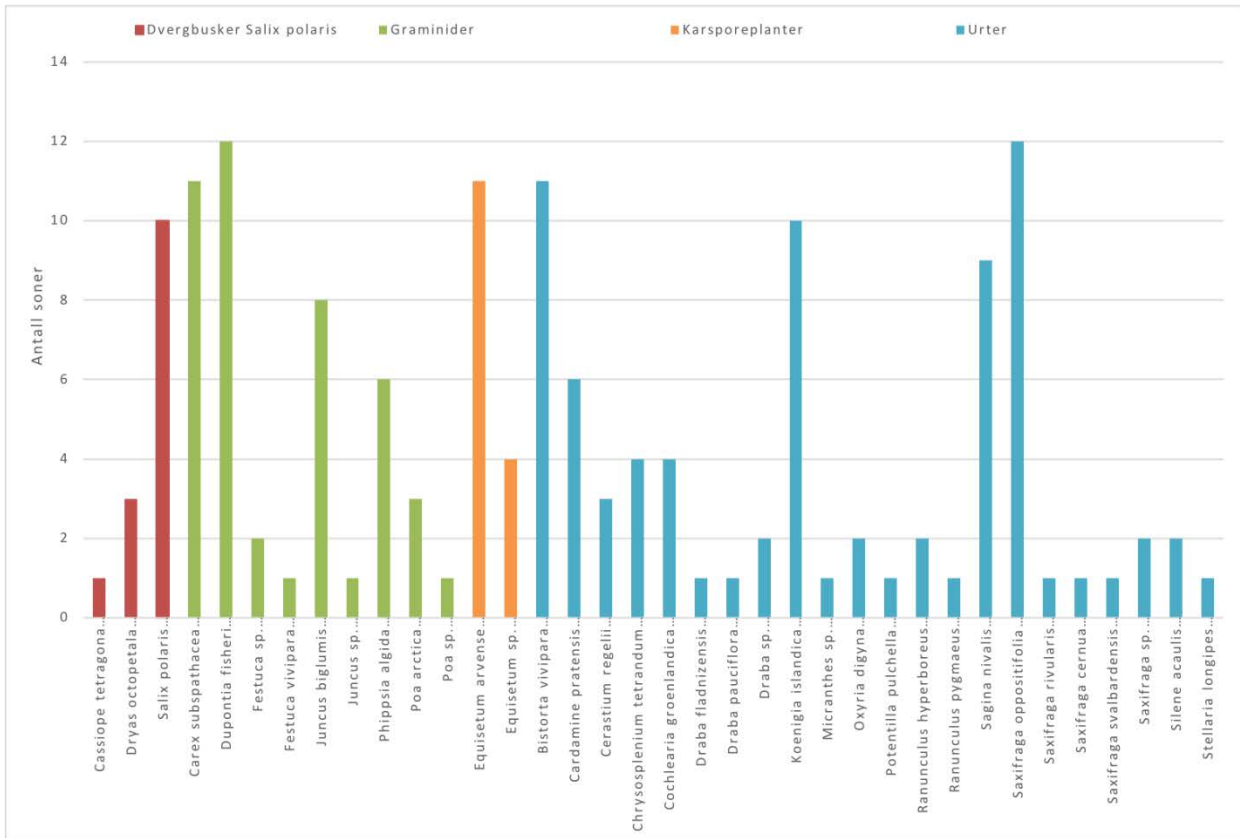
**Figur 1.** Satelittbilde av den undersøkte vannet ved nordre munning i Ringhorndalen, og kart over Wijdefjorden hvor Ringhorndalen er markert (rød prikk). Markeringene på satelittbildet viser stedet der kjerneboringene ble gjort (rød stjerne; 79.3383°N, 16.0167°E), samlingsstedene for moderne sedimenter (turkise diamanter) og soner for ruteanalyser av dagens vegetasjon (grønne firkanter).

## Resultater og diskusjon

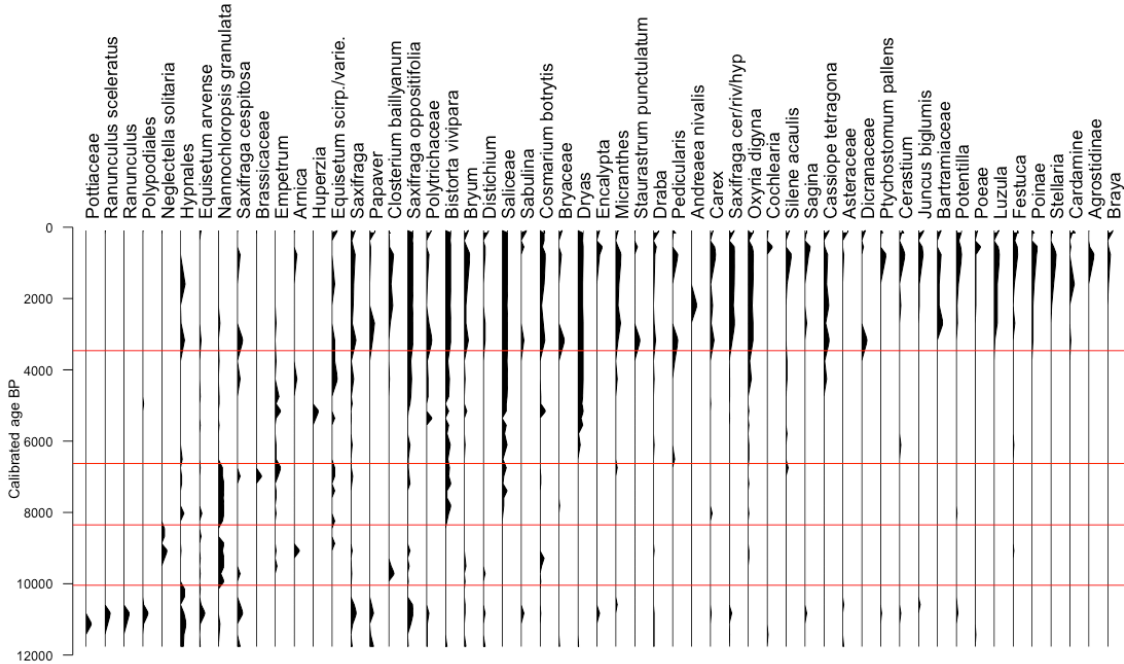
Sekvensanalyser av de to varmekjære bakkestjerneartene i området, *Erigeron uniflorus* og *E. eriocephalus* har så langt ikke gitt nok sekvensvariasjon til å si noe om mulig kildeområde og innvandringsvei av disse artene, mens sekvensanalyse av blokkebær (*Vaccinium uliginosum*) avdekket en ny genetisk variant for Svalbard (i.e. haplotype basert på kloroplast DNA), som tidligere kun er registrert i populasjoner fra Grønland og Canada (haplotype E)(Eidesen *et al.*, 2007). Dette tyder på at forfedrene til dagens blokkebær i Ringhorndalen har kommet vestfra, og at de har en annen opprinnelse en populasjonene vi kjenner til fra Isfjorden, hvor vi finner en annen haplotype (haplotype C)(Eidesen *et al.*, 2007).

Våre DNA analyser viser at dette området ble kolonisert svært tidlig etter siste istid. Sedimentkjernen undersøkt for historisk DNA viste seg å inneholde det eldste daterte fossile plantematerialet kjent fra Svalbard etter isen trakk seg tilbake. Resultatene fra vegetasjonsanalyser rundt det undersøkte vannet (Figur 2) viste at dagens plantesammensetning er mindre varmekjær enn plantesammensetningen i første halvdel av Holocen, som avdekket i analyser av historisk DNA fra sedimentkjernen (Figur 3).





**Figur 2.** Karplanter registrert i august 2017 under vegetasjonsanalyse rundt vannet hvor den undersøkte sedimentkjernen i Ringhorndalen ble tatt. 120 ruteanalyser ble gjort i totalt 12 soner rundt vannet. Diagrammet viser hvor mange soner artene forekom i.



**Figur 3.** Arter og høyere taksonomiske grupper av karplanter funnet i analyser av historisk DNA fra sedimentkjerner fra vannet ved nordre munning i Ringhorndalen (modifisert fra Voldstad, 2018)

## **Konklusjon og planer fremover**

Våre DNA resultater støtter hypotesen om at de sørvendte skråningene i Ringhorndalen og Flatøyr dalen rommer restene av en mer varmekjær flora og fauna med større utbredelse på Svalbard under varmeperioden etter siste istid (ca. 9000-5000 år siden; (Hyvärinen, 1970; Birks, 1991; Miller *et al.*, 2010; Alsos *et al.*, 2016).

Vi jobber for tiden med flere publikasjoner fra prosjektet, inkludert å skrive om Voldstads masteroppgave til en publikasjon. Videre jobber vi med å kartlegge flere arter via fylogeografiske metoder. I samarbeid med blant annet Josef Elster, Centre for Polar Ecology, University of South Bohemia, Tsjekkia, vil en PhD student Viktorie Brožová jobbe videre med disse problemstillingene.

## **Takksigelser**

Takk til en rekke ansatte på Tromsø Museum (UiT) som har bidratt til både labanalyse og bioinformatiske analyser av historisk DNA, Sysselmannen på Svalbard for lån av hytte, UNIS for økonomisk støtte, logistikk og teknisk assistanse i felt og på lab, Lufttransport for effektiv transport, Svalbard miljøvernfond for støtten og ellers alle som har bidratt til å gjøre dette prosjektet mulig.

## **Referanser**

Alsos, I.G., Sjogren, P., Edwards, M.E., Landvik, J.Y., Gielly, L., Forwick, M., Coissac, E., Brown, A.G., Jakobsen, L.V., Foreid, M.K. & Pedersen, M.W. (2016) Sedimentary ancient DNA from Lake Skartjorna, Svalbard: Assessing the resilience of arctic flora to Holocene climate change. *Holocene*, 26, 627-642.

Birks, H.H. (1991) Holocene vegetational history and climatic change in west Spitsbergen - plant macrofossils from Skardtjorna, an Arctic lake. *The Holocene*, 1, 209-218.

DeAngelis, M.M., Wang, D.G. & Hawkins, T.L. (1995) Solid-phase reversible immobilization for the isolation of PCR products. *Nucleic Acids Res*, 23, 4742-3.

Eidesen, P.B., Strømmen, K. & Vader, A. (2013) Fjelltettegras *Pinguicula alpina* funnet ny for Svalbard i Ringhorndalen, Wijdefjorden, en uutforsket arktisk oase. *Blyttia*, 71, 209 – 213.

Eidesen, P.B., Alsos, I.G., Popp, M., Stensrud, O., Suda, J. & Brochmann, C. (2007) Nuclear vs. plastid data: complex Pleistocene history of a circumpolar key species. *Molecular Ecology*, 16, 3902-25.

Elvebakk, A. & Nilsen, L. (2002) Indre Wijdefjorden med sidefjorder: eit botanisk unikt steppeområde. In: Rapport til Sysselmannen på Svalbard.

Elvebakk, A. & Nilsen, L. (2011) Svalbardsaltgras *Puccinellia svalbardensis* - endemisk for Svalbard, men vanleg i steppeområdet ved Wijdefjorden. *Blyttia : Norsk botanisk forenings tidsskrift*, 69, 173 - 183.

Elvebakk, A. & Nilsen, L. (2016) Stepperørkvein *Calamagrostis purpurascens* i Wijdefjorden på Svalbard - einaste lokalitetar i Europa. . *Blyttia : Norsk botanisk forenings tidsskrift* 2016, 74, 259 - 266.

Hamilton, M.B. (1999) Primer Notes - Four primer pairs for the amplification of chloroplast intergenic regions with intraspecific variation. *Molecular Ecology*, 8, 521-523.



Hyvärinen, H. (1970) Flandrian Pollen Diagrams from Svalbard. *Geografiska Annaler. Series A, Physical Geography*, 52, 213- 222.

Miller, G.H., Brigham-Grette, J., Alley, R.B., Anderson, L., Bauch, H.A., Douglas, M.S.V., Edwards, M.E., Elias, S.A., Finney, B.P., Fitzpatrick, J.J., Funder, S.V., Herbert, T.D., Hinzman, L.D., Kaufman, D.S., MacDonald, G.M., Polyak, L., Robock, A., Serreze, M.C., Smol, J.P., Spielhagen, R., White, J.W.C., Wolfe, A.P. & Wolff, E.W. (2010) Temperature and precipitation history of the Arctic. *Quaternary Science Reviews*, 29, 1679-1715.

Möller, M. & Cronk, Q.C.B. (1997) Origin and relationships of *Saintpaulia* (Gesneriaceae) based on ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS) sequences. *American Journal Of Botany*, 84, 956-965.

Soininen, E. M., Gauthier, G., Bilodeau, F., Berteaux, D., Gielly, L., Taberlet, P., ... & Epp, L. (2015). Highly overlapping winter diet in two sympatric lemming species revealed by DNA metabarcoding. *Plos One*, 10(1), e0115335.

Sønstebo, J. H., Gielly, L., Brysting, A. K., Elven, R., Edwards, M., Haile, J., ... & Taberlet, P. (2010). Using next-generation sequencing for molecular reconstruction of past Arctic vegetation and climate. *Molecular Ecology Resources*, 10(6), 1009-1018.

Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Gielly, L., Miquel, C., Valentini, A., ... & Willerslev, E. (2006). Power and limitations of the chloroplast trn L (UAA) intron for plant DNA barcoding. *Nucleic acids research*, 35(3), e14-e14.

Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G. & Bouvet, J. (1991) Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, 17, 1105-1109.

Voldstad, L. H. (2018). *The Holocene vegetation history of an isolated , high-arctic plant diversity hotspot* (Masteroppgave). Fakultet for miljøvitenskap og naturforvaltning, Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, Ås.

White, T., Bruns, T., Lee, S. & Taylor, J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR-protocols a guide to methods and amplications*. (ed. by M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninski and T.J. White), pp. 315-322. Academic press, San Diego.

Willerslev, E., Davison, J., Moora, M., Zobel, M., Coissac, E., Edwards, M. E., ... & Craine, J. (2014). Fifty thousand years of Arctic vegetation and megafaunal diet. *Nature*, 506(7486), 47.

Alsos, I.G., Westergaard, K., Lund, L. & Sandbakk, B.E. (2004) Floraen i Colesdalen, Svalbard *Blyttia*, 62, 142 – 150.